(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 981 569**

(51) Int. Cl.:

A61K 35/17 (2015.01)
A61K 39/00 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.11.2019 PCT/US2019/063889**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **04.06.2020 WO20113194**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.11.2019 E 19824224 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2024 EP 3886875**

(54) Título: **Métodos de tratamiento usando terapia celular adoptiva**

(30) Prioridad:

30.11.2018 US 201862774164 P
06.12.2018 US 201862776415 P
14.05.2019 US 201962847926 P
30.05.2019 US 201962854945 P
22.08.2019 US 201962890600 P
05.11.2019 US 201962931204 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.10.2024

(73) Titular/es:

JUNO THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
400 Dexter Ave. N Suite 1200
Seattle, WA 98109-4703, US

(72) Inventor/es:

ALBERTSON, TINA;
GARCIA, JACOB RANDOLPH;
GILBERT, MARK;
LI, HE;
SUTHERLAND, CLAIRE y
TREDE, NIKOLAUS SEBASTIAN

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

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

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

Métodos de tratamiento usando terapia celular adoptiva

Campo

La presente divulgación se refiere en algunos aspectos a la terapia celular adoptiva que implica la administración de dosis de células para tratar sujetos con linfoma de linfocitos B recurrente o resistente a tratamiento. Las células generalmente expresan receptores recombinantes tales como receptores de antígenos quiméricos (CAR).

Antecedentes

Se encuentran disponibles diversos métodos de inmunoterapia y/o terapia celular para tratar enfermedades y afecciones. Por ejemplo, las terapias celulares adoptivas (incluidas aquellas que implican la administración de células que expresan receptores quiméricos específicos para una enfermedad o trastorno de interés, tal como receptores de antígenos quiméricos (CAR) y/u otros receptores de antígenos recombinantes, así como otras terapias con células inmunitarias adoptivas y linfocitos T adoptivos) pueden ser beneficiosas en el tratamiento del cáncer u otras enfermedades o trastornos. Se necesitan mejores enfoques. Se proporcionan métodos, usos y artículos de fabricación que satisfagan tales necesidades.
El documentoWO2015157384 A1 describe productos de linfocitos T genomodificados de composición diseñada. El documento WO2019109053 A1 describe métodos para la dosificación y la modulación de células genéticamente modificadas. J. Abramson et al, Journal of Clinical Oncology, (20180520), describe la seguridad actualizada y los resultados clínicos a largo plazo en Transcend NHL 001, ensayo pivotal de lisocabtagene maraleucel (JCAR017) en LNH agresivo R/R. J. Abramson et al, Blood (2017) 130 (suplemento 1): 581, describe altas tasas de RC duraderas en B-LNH agresivo recurrente/resistente a tratamiento (R/R) tratados con el producto de linfocitos T CAR dirigido a CD19 JCAR017 (Transcend NHL 001). A. Ghobadi, Current Research in Translational Medicine, (20180411), vol. 66, n.º 2, describe la terapia con linfocitos T con receptor quimérico para el antígeno para el linfoma no Hodgkin. J. Abrambson et al, Blood, 58th Annual Meeting and Exposition of the American Society of Hematology (Ash), (20161202), vol. 128, n.º 22, página 4192, describe que la inmunoterapia con el producto de linfocitos T-CAR dirigido a CD19 JCAR017 da como resultado altas tasas de respuesta completa en linfoma de no Hodgkin de linfocitos B recurrente o resistente a tratamiento. R. Larson et al, 109th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research (AACR) (20180701), resumen 960, describe que la composición celular definida y el control preciso sobre la dosis de JCAR017 permiten la identificación de relaciones entre los atributos del producto de linfocitos T con receptor quimérico para el antígeno, farmacocinética y criterios de valoración clínicos en el LNH.

Sumario

La invención está definida por las reivindicaciones adjuntas.

La invención proporciona una dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso en un método para tratar a un sujeto que tiene o se sospecha que tiene una enfermedad o afección que es linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento (LLBG r/r), comprendiendo el método administrar al sujeto la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$, en donde los linfocitos T de cada dosis comprenden un receptor de antígeno quimérico (CAR) que se une específicamente a CD19, en donde:

en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto es o ha sido identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH);

la dosis de linfocitos T comprende entre exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR y exactamente o aproximadamente 2×10^8 linfocitos T que expresan CAR, inclusive;

la dosis de linfocitos T comprende una relación de aproximadamente 1:1 de linfocitos T $CD4^+$ que expresan el CAR con respecto a linfocitos T $CD8^+$ que expresan el CAR; y

la administración comprende administrar una pluralidad de composiciones separadas, en donde la pluralidad de composiciones separadas comprende una primera composición que comprende linfocitos T $CD8^+$ y una segunda composición que comprende linfocitos T $CD4^+$.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el linfoma en el sujeto está asociado o implica afectación del sistema nervioso central (SNC). En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto comprende una lesión cerebral, como una lesión cerebral del lóbulo temporal.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el linfoma de linfocitos B grandes se selecciona de un linfoma no Hodgkin (LNH) agresivo, linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), opcionalmente LDLBG NOS (de

novo o transformado de indolente), linfoma de linfocitos B de alto grado (LLBAG), linfoma de doble/triple impacto, linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP), linfoma de células del manto (LCM), linfoma folicular transformado (LFt) y/o linfoma folicular (LF), opcionalmente linfoma folicular Grado 3B (LF3B). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es un linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el LDLBG es un LDLBG NOS, un LDLBG de novo o un LDLBG transformado a partir de un linfoma indolente. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el LDLBG es un LDLBG de novo. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el LDLBG es un LDLBG transformado a partir de linfomas indolentes distintos del LF. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el LDLBG es un LDLBG transformado a partir de linfoma de zona marginal (LZMt) o un LDLBG transformado a partir de leucemia linfocítica crónica (LLCt; de Richter). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es un linfoma de linfocitos B de linfocitos B de alto grado (LLBAG). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el LLBAG tiene reordenamientos MYC y BCL2 y/o BCL6. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el LLBAG tiene una histología LDLBG. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es un linfoma de doble/triple impacto. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es linfoma de células del manto (LCM). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes no es un linfoma primario del sistema nervioso central (LPSNC). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es un linfoma folicular transformado (LFt). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es linfoma folicular (LF). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el LF está asociado a co-expresión de CD10, BCL6 y BCL2 dentro de los folículos, y/o reordenamientos t(14;18)/(q32;q21) (IGH-BCL2) y/o BCL6. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el linfoma de linfocitos B grandes es linfoma folicular grado 3B (LF3B).

En algunas de cualquiera de las realizaciones, la dosis de linfocitos T para su uso está enriquecida con linfocitos T CD3+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. En algunas de cualquiera de las realizaciones, más de exactamente o aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o el 98 % de las células en la dosis de linfocitos T para su uso son linfocitos T CD3+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. En la invención algunas de cualquier realización, la dosis de linfocitos T comprende una relación definida de células $CD4^+$ que expresan el receptor a células $CD8^+$ que expresan un receptor y/o de células $CD4^+$ con respecto a células $CD8^+$, relación que es aproximadamente 1:1. En algunas de cualquiera de las realizaciones, la relación definida es o es aproximadamente 1:1.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el inicio de la administración de la primera composición se realiza antes del inicio de la administración de la segunda composición. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan con no más de 48 horas de diferencia. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan con no más de 36 horas de diferencia, no más de 24 horas de diferencia, no más de 12 horas de diferencia, no más de 6 horas de diferencia, no más de 4 horas de diferencia, no más de 2 horas de diferencia, no más de 1 hora de diferencia o no más de 30 minutos de diferencia. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 36 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 24 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 12 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 6 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 2 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 1 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 30 minutos, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 4 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 2 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 1 hora, entre exactamente o aproximadamente 1 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 4 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 2 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 4 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre

exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 12 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 12 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 12 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 24 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 24 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas o entre exactamente o aproximadamente 36 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan el mismo día, se realizan con entre aproximadamente 0 y aproximadamente 12 horas de diferencia, entre aproximadamente 0 y aproximadamente 6 horas de diferencia o entre aproximadamente 0 a 2 horas de diferencia; o el inicio de la administración de la primera composición y el inicio de la administración de la segunda composición se realizan con entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 1 hora de diferencia o entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos de diferencia. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la primera composición y la segunda composición se administran con no más de 2 horas, no más de 1 hora, no más de 30 minutos, no más de 15 minutos, no más de 10 minutos o no más de 5 minutos de diferencia.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el receptor contenido en los linfocitos T $CD4^+$ y/o el receptor contenido en los linfocitos T $CD8^+$ incluye un receptor que es el mismo y/o en donde los linfocitos T $CD4^+$ y/o los linfocitos T $CD8^+$ se modifican genéticamente para expresar un receptor recombinante que es el mismo.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ contiene una relación definida de células $CD4^+$ que expresan un receptor recombinante con respecto a células $CD8^+$ que expresan un receptor recombinante y/o de células $CD4^+$ con respecto a células $CD8^+$, que es o es aproximadamente 1:1; y/o los linfocitos T $CD4^+$ que contienen el receptor en una de las composiciones primera y segunda y los linfocitos T $CD8^+$ que contienen el receptor en la otra de las composiciones primera y segunda están presentes en una relación definida que es o es aproximadamente 1:1; y/o los linfocitos T $CD4^+$ que contienen el receptor y los linfocitos T $CD8^+$ que contienen el receptor administrado en las composiciones primera y segunda están presentes en una relación definida, relación que es o es aproximadamente 1:1.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso contiene: entre exactamente o aproximadamente 1×10^7 y exactamente o aproximadamente 2×10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales, inclusive; entre exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ y exactamente o aproximadamente $1{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales, inclusive; entre exactamente o aproximadamente 5×10^7 y exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales, inclusive; exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales; exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales; o exactamente o aproximadamente $1{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso comprende exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso comprende exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso comprende exactamente o aproximadamente $1{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso contiene: entre exactamente o aproximadamente 1×10^7 y exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes, inclusive; entre exactamente o aproximadamente $1{,}25 \times 10^7$ y exactamente o aproximadamente $7{,}5 \times 10^7$ linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes, inclusive; entre exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ y exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes, inclusive; exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes; exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes; o exactamente o aproximadamente $7{,}5 \times 10^7$ linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso comprende exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso comprende exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso comprende exactamente o aproximadamente $7{,}5 \times 10^7$ linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes.

En la invención reivindicada, los linfocitos T de cada dosis comprenden un receptor de antígeno quimérico (CAR) que se une específicamente a CD19.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, dos, tres, cuatro o más terapias anteriores para la enfermedad o afección distintos de otra dosis de células que expresan el CAR.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, la terapia anterior comprende una antraciclina y un agente dirigido a CD20. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el uno o más agentes dirigidos a CD20 comprenden rituximab. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el uno o más agentes dirigidos a CD20 comprenden R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina clorhidrato (hidroxidaunomicina), sulfato de vincristina (oncovin) y prednisona).

En algunas de cualquiera de las realizaciones, la terapia anterior comprende un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) alogénico o uno autólogo. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto ha recaído en el intervalo de 1 año o menos de 1 año después de recibir el TCMH.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto no ha conseguido la remisión completa (RC) en respuesta a la terapia anterior.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, se ha identificado que el sujeto tiene una enfermedad agresiva o enfermedad de alto riesgo o tiene un mal pronóstico.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, se ha identificado que el sujeto tiene una enfermedad resistente a quimioterapia o tiene una enfermedad persistente o recurrente después de la quimioterapia. En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, se ha identificado que el sujeto tiene un linfoma resistente a quimioterapia, opcionalmente un LDLBG resistente a quimioterapia.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, se ha identificado que el sujeto tiene un linfoma asociado con o que implica afectación del sistema nervioso central (SNC) o un linfoma secundario del SNC. En algunas de cualquier realización: en el momento o antes de la administración de la dosis de células, se identifica o se ha identificado que el sujeto tiene un linfoma asociado con o que implica afectación del sistema nervioso central (SNC) o un linfoma secundario del SNC; y/o al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método que, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, presentaban o se identificó que presentaban un linfoma con afectación del SNC o un linfoma secundario del SNC, consiguieron una resolución de la enfermedad del SNC.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto tiene 65 años o más. En algunas de cualquiera de las realizaciones, entre los sujetos tratados, más de exactamente o aproximadamente el 35 %, más de exactamente o aproximadamente el 40 %, más de exactamente o aproximadamente el 45 % o más de exactamente o aproximadamente el 50 %, o cualquier valor entre cualquiera de los anteriores, tienen 65 años o más. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto tiene 70 años o más.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función cardíaca deteriorada, opcionalmente con una fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI) inferior o aproximadamente al 50 %. En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función renal deteriorada, opcionalmente con un aclaramiento de creatinina calculado inferior a o aproximadamente 60 ml/min. En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función pulmonar deteriorada, opcionalmente con una capacidad de difusión de los pulmones para monóxido de carbono (DLCO) del o aproximadamente el 60 % o menos. En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función hepática deteriorada, opcionalmente con una aspartato aminotransferasa (AST) y una alanina aminotransferasa (ALT) de más del o aproximadamente el doble del límite superior de la normalidad (LSN).

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recibido una quimioterapia de transición entre el momento de la leucocitaféresis para producir la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso y la administración de la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso. En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recibido una quimioterapia de transición para el control de la enfermedad después de una terapia anterior. En algunas de cualquiera de las realizaciones, la quimioterapia de transición se selecciona entre uno o más de: rituximab-gemcitabina más oxaliplatino, dexametasona, radioterapia, rituximab, prednisona, BR, lenalidomida, gemcitabina más oxaliplatino, brentuximab vedotina, ibrutinib, bendamustina y/o gemcitabina + rituximab.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 0, 1 o 2. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 0 o 1. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 2.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una suma de dimensiones de producto (SPD) de un tumor en el sujeto que es de exactamente o aproximadamente 50 cm^2 o mayor.

En la invención como reivindican las realizaciones provistas, el receptor recombinante es un receptor de antígeno quimérico (CAR). En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el CAR contiene un dominio de señalización intracelular que contiene una cadena CD3-zeta (CD3ζ) y una región de señalización coestimuladora que es un dominio de señalización de CD28 o 4-1BB.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, los linfocitos T para su uso son linfocitos T primarios obtenidos de un sujeto. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, los linfocitos T son autólogos al sujeto.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 % de los sujetos quienes, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, tenían o se identificó que tenían un linfoma de doble/triple impacto o una recaída después de la administración de un trasplante de células madre autólogo (TCMA), consiguieron una RO o una RO que es duradera durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, al menos el 35 %, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen una respuesta completa (RC): al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RC exhiben una RC que es duradera durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses; y/o al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RC en un mes y/o en 3 meses permanecen en respuesta, permanecen en CR, y/o sobreviven o sobreviven sin progresión, durante exactamente o más de 3 meses y/o exactamente o más de 6 meses y/o exactamente más de 9 meses después de conseguir la RC; y/o al menos el 50 %, al menos el 60 % o al menos el 70 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen una respuesta objetiva (RO); al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RO exhiben una RO que es duradera durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses; y/o al menos el 35 %, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos que consiguen una RO permanecen en respuesta o sobreviven durante exactamente o más de 3 meses y/o exactamente o más de 6 meses después de conseguir la RO; y/o al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 % de los sujetos quienes, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, tenían o se identificó que tenían un linfoma de doble/triple impacto o recaída, después de la administración de un trasplante de células madre autólogo (TCMA), consiguieron una RO o una RO que es duradera durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, las células para su uso son autólogas del sujeto, y no se requiere y/o no se especifica ningún recuento absoluto de linfocitos (RAL) mínimo para aféresis para la producción de la terapia; y/o las células se producen mediante un proceso que, para al menos el 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100 % de los sujetos que tienen la enfermedad o afección o de la población de sujetos seleccionada, es capaz de generar un producto celular para administración de acuerdo con el método.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, más de o más de aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %, aproximadamente el 70 % o aproximadamente el 80 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método no presentan un síndrome de liberación de citocinas (SLC) de grado 3 o superior y/o no presentan una neurotoxicidad de grado 3 o superior y/o más del 40 % o el 50 % o el 55 % no presentan ninguna neurotoxicidad ni SLC.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la RC o la RO es duradera durante más de 3 meses o más de 6 meses; y/o al menos el 20 %, al menos el 25 %, al menos el 35 %, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen una RC que es duradera durante más de 3 meses o más de 6 meses; y/o al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RC, permanecen en RC o permanecen en respuesta o siguen sobreviviendo durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses o exactamente o más de 9 meses; y/o al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RC en un mes y/o en 3 meses permanecen en respuesta, permanecen en CR, y/o sobreviven o sobreviven sin progresión, durante exactamente o más de 3 meses y/o exactamente o más de 6 meses y/o exactamente más de 9 meses; y/o al menos el 50 %, al menos el 60 % o al menos el 70 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen una respuesta objetiva (RO); al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los

sujetos consiguen una RO que es duradera durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses; y/o al menos el 35 %, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos que consiguen una RO permanecen en respuesta o sobreviven durante exactamente o más de 3 meses y/o exactamente o más de 6 meses.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, se identifica o se ha identificado que el sujeto tiene un linfoma asociado con o que implica afectación del sistema nervioso central (SNC); y/o al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o al menos el 95 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método que, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, presentaban o se identificó que presentaban un linfoma con afectación del SNC, consiguieron una resolución de la enfermedad del SNC.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan con no más de 48 horas de diferencia. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan con no más de 36 horas de diferencia, no más de 24 horas de diferencia, no más de 12 horas de diferencia, no más de 6 horas de diferencia, no más de 4 horas de diferencia, no más de 2 horas de diferencia, no más de 1 hora de diferencia o no más de 30 minutos de diferencia.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 36 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 24 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 12 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 6 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 2 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 1 hora, entre exactamente o aproximadamente 0 y exactamente o aproximadamente 30 minutos, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 4 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 2 horas, entre exactamente o aproximadamente 30 minutos y exactamente o aproximadamente 1 hora, entre exactamente o aproximadamente 1 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 4 horas, entre exactamente o aproximadamente 1 hora y exactamente o aproximadamente 2 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 2 horas y exactamente o aproximadamente 4 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 4 horas y exactamente o aproximadamente 6 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 6 horas y exactamente o aproximadamente 12 horas, entre exactamente o aproximadamente 12 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 12 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas, entre exactamente o aproximadamente 12 horas y exactamente o aproximadamente 24 horas, entre exactamente o aproximadamente 24 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas, entre exactamente o aproximadamente 24 horas y exactamente o aproximadamente 36 horas o entre exactamente o aproximadamente 36 horas y exactamente o aproximadamente 48 horas.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan el mismo día, se realizan con entre aproximadamente 0 y aproximadamente 12 horas de diferencia, entre aproximadamente 0 y aproximadamente 6 horas de diferencia o entre aproximadamente 0 a 2 horas de diferencia; o el inicio de la administración de la primera composición y el inicio de la administración de la segunda composición se realizan con entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 1 hora de diferencia o entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos de diferencia.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la primera composición y la segunda composición se administran con no más de 2 horas, no más de 1 hora, no más de 30 minutos, no más de 15 minutos, no más de 10 minutos o no más de 5 minutos de diferencia.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el receptor comprendido por los linfocitos T $CD4^+$ y/o el receptor comprendido por los linfocitos T $CD8^+$ comprende un receptor que es el mismo y/o en donde los linfocitos T $CD4^+$ y/o los linfocitos T $CD8^+$ se modifican genéticamente para expresar un receptor recombinante que es el mismo.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, al menos el 35 %, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen una respuesta completa (RC) o una remisión de la enfermedad del SNC; al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RC permanecen en RC durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses; y/o al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RC o remisión de la enfermedad del SNC en un mes y/o en 3 meses permanecen en respuesta, permanecen en CR, y/o sobreviven o sobreviven sin progresión, durante exactamente o más de 3 meses y/o exactamente o más de 6 meses y/o exactamente más de 9 meses; y/o al menos el 50 %, al menos el 60 % o al menos el 70 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen una respuesta objetiva (RO) o remisión de la enfermedad del SNC; al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RO, durante exactamente o más de 3 meses o exactamente o más de 6 meses; y/o al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o el 95 % de los sujetos que consiguen una RO o remisión de la enfermedad del SNC permanecen en respuesta o sobreviven durante exactamente o más de 3 meses y/o exactamente o más de 6 meses; y/o la lesión cerebral se reduce en tamaño o volumen en más de o más de aproximadamente el 25 %, 50 %, 75 % o más; y/o la reducción o remisión o eliminación de la enfermedad del SNC se consigue en al menos el 35 %, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, más de o más de aproximadamente el 30 %, 35 %, 40 % o el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método no presentan ningún grado de síndrome de liberación de citocinas (SLC) o de neurotoxicidad; y/o al menos exactamente o aproximadamente el 45 %, 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o el 95 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método no presentan una aparición de SLC antes de los 3 días siguientes al inicio de la administración y/o no presentan una aparición de neurotoxicidad antes de los 5 días siguientes al inicio de la administración; y/o la mediana de aparición de neurotoxicidad entre los sujetos tratados de acuerdo con el método está en o después de la mediana del pico de, o la mediana del tiempo hasta la resolución de, SLC en sujetos tratados de acuerdo con el método y/o la mediana de aparición de neurotoxicidad entre sujetos tratados de acuerdo con el método es superior a exactamente o aproximadamente 8, 9, 10 u 11 días.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método presentan una mejora de 10 puntos o más en el Cuestionario de calidad de vida Core de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento versión 3.0 (EORTC QLQ-C30) en el estado de salud global a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas de cualquiera de las realizaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en el funcionamiento físico a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas de cualquiera de las realizaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en la fatiga a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas de cualquiera de las realizaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en el dolor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas de cualquiera de las realizaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en el dolor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, la puntuación media de EuroQol-5D (EQ-5D-5L) de 5 niveles entre los sujetos tratados de acuerdo con el método es igual o mayor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas de cualquiera de las realizaciones, la puntuación media de la escala analógica visual global EuroQol (EQ-VAS) entre los sujetos tratados de acuerdo con el método es igual o mayor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, antes del inicio de la administración de la dosis de células,

al sujeto no se le ha administrado un agente o tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o el riesgo de desarrollo de una toxicidad después de la administración de la dosis de células.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el agente es o comprende un anticuerpo anti-IL-6, anticuerpo anti-receptor de IL-6 o un esteroide. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el agente es o comprende tocilizumab, siltuximab, dexametasona o metilprednisolona.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración y cualquier seguimiento se realiza en base ambulatoria y/o sin requerir ingreso o pernoctación en un hospital; y si el sujeto presenta una fiebre sostenida o una fiebre que es o no se ha reducido o no se reduce en más de 1 °C después del tratamiento con un antipirético, el sujeto se admite en el hospital o pasa la noche en un hospital y/o se le administra un agente o tratamiento para el tratamiento o prevención o reducción o atenuación de una neurotoxicidad y/o un síndrome de liberación de citocinas o riesgo del mismo.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el LNH se selecciona del grupo que consiste en LNH agresivo, linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), NOS (de novo o transformado a partir de indolente), linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP), linfoma de células del manto (LCM) y/o linfoma folicular (LF), tal como linfoma folicular Grado 3B (LF3B). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto tiene linfoma folicular (LF). En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el LNH es un LDLBG. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el LDLBG es un LDLBG, no especificado de otra manera (NOS), un LDLBG de novo o un LDLBG transformado a partir de un linfoma indolente. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el LDLBG es un LDLBG de novo. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el LDLBG es un LDLBG transformado a partir de un linfoma folicular (LFt). En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el LDLBG es un LDLBG transformado a partir de linfoma de zona marginal (LZMt) o un LDLBG transformado a partir de leucemia linfocítica crónica (LLCt; de Richter). En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el LNH es un linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) o un linfoma folicular (LF), tal como linfoma folicular grado 3B (LF3B). En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto tiene linfoma folicular (LF).

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado de estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de 0, 1 o 2. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 0 o 1.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se ha vuelto resistente a tratamiento a, una o más terapias anteriores para el linfoma de linfocitos B grandes. En algunas realizaciones, la una, dos o tres terapias anteriores son distintas a otra dosis de células que expresan el CAR.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una terapia anterior para la enfermedad o afección distinta de otra dosis de células que expresan el CAR. En algunas de cualquiera de las realizaciones, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, dos o más terapias anteriores para la enfermedad o afección distintas de otra dosis de células que expresan el CAR. En la invención como se reivindica, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH).

En la invención como se reivindica, el sujeto tiene un LNH recurrente/resistente a tratamiento que es un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento (LLBG r/r), y en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), y el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una terapia anterior para la enfermedad o afección distinta de otra dosis de células que expresan el CAR. En la invención en el momento o antes de la administración de la dosis de células: el sujeto tiene o se ha identificado que tiene un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento; y opcionalmente (a) el sujeto se trata o se ha tratado con una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20; y/o (b) el sujeto tiene o ha tenido una enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de dos o más líneas de terapia o después de un TCMH autólogo; y/o (c) el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional de ECOG de 1 o 2; y/o (d) si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD 19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD19 previo comprende una célula que expresa CD 19; y la administración de la dosis de células se realiza a través de suministro ambulatorio.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, en el momento o antes de la administración de la dosis de

células: el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un linfoma de doble/triple impacto; y/o el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un linfoma resistente a quimioterapia, tal como un LDLBG resistente a quimioterapia; y/o el sujeto no ha conseguido la remisión completa (RC) en respuesta a la terapia anterior; y/o el sujeto ha recaído en el intervalo de 1 año o menos de 1 año después de recibir un trasplante de células madre autólogo (TCMA).

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto tiene una enfermedad positiva para la tomografía por emisión de positrones (TEP).

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se trata o se ha tratado con una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el uno o más agentes dirigidos a CD20 comprenden rituximab. En algunas de cualquiera de las realizaciones, el uno o más agentes dirigidos a CD20 comprenden R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina clorhidrato (hidroxidaunomicina), sulfato de vincristina (oncovin) y prednisona).

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, antes de la administración de la dosis de células, identificar o seleccionar un sujeto para la administración de la dosis de células que tiene: un linfoma de doble/triple impacto; un linfoma resistente a quimioterapia, tal como un LDLBG resistente a quimioterapia; no ha conseguido la remisión completa (RC) en respuesta a una terapia anterior para tratar la enfermedad o el trastorno; y/o ha recaído en el intervalo de 1 año o menos de 1 año después de recibir un trasplante de células madre autólogo (TCMA); y/o tiene un linfoma asociado con o que implica afectación del sistema nervioso central (SNC).

En algunas de cualquiera de las realizaciones, antes de la administración de la dosis de células, las realizaciones proporcionadas implican identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células a un sujeto que tiene un linfoma folicular (LF), tal como un LF que está asociado con la co-expresión de CD10, BCL6 y BCL2 dentro de los folículos, y/o reordenamientos t(14;18)/(q32;q21) (IGH-BCL2) y/o BCL6.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD19 previo comprende una célula que expresa CD 19.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células: el sujeto tiene o se ha identificado que tiene un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento; y/o el sujeto se trata o se ha tratado con una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20; y/o el sujeto tiene o ha tenido una enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de dos o más líneas de terapia o después de un TCMH autólogo; y/o el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional de ECOG de 1 o 2; y/o si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD 19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD 19 previo comprende una célula que expresa CD 19.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, la administración de la dosis de células se realiza a través de suministro ambulatorio.

En la invención, en el momento o antes de la administración de la dosis de células: el sujeto tiene o se ha identificado que tiene un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento; y opcionalmente (a) el sujeto se trata o se ha tratado con una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20; y/o (b) el sujeto tiene o ha tenido una enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de dos o más líneas de terapia o después de un TCMH autólogo; y/o (c) el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional de ECOG de 1 o 2; y/o (d) si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD 19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD 19 previo comprende una célula que expresa CD 19; y la administración de la dosis de células se realiza a través de suministro ambulatorio.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, antes de la administración de la dosis de células, identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que tiene un linfoma de linfocitos B grandes recurrente/resistente a tratamiento; que se identifica o se ha identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH); y que ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una terapia anterior para la enfermedad o afección distinta de otra dosis de células que expresan el CAR.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, antes de la administración de la dosis de células, identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que es o tiene: 70 años o más; y/o un estado funcional del ECOG de 2; y/o una función pulmonar deteriorada, opcionalmente con una capacidad de difusión de los pulmones para monóxido de carbono (DLCO) de exactamente o aproximadamente el 60 % o menos; y/o una función cardiaca deteriorada, opcionalmente con una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) inferior a exactamente o aproximadamente el 50 %; y/o una función renal deteriorada, opcionalmente con un aclaramiento de creatinina calculado inferior a exactamente o aproximadamente 60 ml/min; y/o una función hepática deteriorada, opcionalmente con una aspartato aminotransferasa (AST) y una alanina aminotransferasa (ALT) de más del o

aproximadamente el doble del límite superior de la normalidad (LSN).

En algunas de cualquiera de las realizaciones, antes de la administración de la dosis de células que se realiza a través de suministro ambulatorio, identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que es o tiene: un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento; y opcionalmente (a) una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20; y/o (b) enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de dos o más líneas de terapia o después de un TCMH autólogo; y/o (c) un estado funcional del ECOG de 1 o 2; y/o (d) si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD 19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD 19 previo comprende una célula que expresa CD 19.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, antes de la administración, el sujeto se ha preacondicionado con una terapia con reducción de linfocitos que comprende la administración de fludarabina y/o ciclofosfamida. En algunas de cualquiera de las realizaciones, inmediatamente antes de la administración de una dosis de las células para su uso, se administra una terapia con reducción de linfocitos al sujeto que comprende la administración de fludarabina y/o ciclofosfamida.

En algunas de cualquiera de las realizaciones, la administración de la dosis de células y/o la terapia con reducción de linfocitos se realiza a través de suministro ambulatorio. En algunas de cualquiera de las realizaciones, la administración de la dosis de células y/o la terapia con reducción de linfocitos se realiza en un centro de asistencia no terciaria. En algunas de cualquiera de las realizaciones, después de la administración de una dosis de las células, el sujeto se monitorea en un entorno ambulatorio, opcionalmente mediante contacto telefónico y/o una visita de un profesional sanitario.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la dosis de linfocitos T CD4+ y CD8+ para su uso se administra al sujeto con un agente terapéutico o terapia adicionales. En algunas realizaciones, el agente o terapia adicionales es una terapia distinta de una terapia celular, tal como distinta a la terapia de linfocitos T CAR^+.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el CAR comprende un dominio de unión a antígeno extracelular específico para el antígeno, un dominio transmembrana, un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula coestimuladora, que, en algunos casos, es un 4-1BB, y un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula que contiene ITAM de señalización primaria, que, en algunos casos, es un CD3zeta; el CAR comprende, en orden, un dominio de unión a antígeno extracelular específico para el antígeno, un dominio transmembrana, un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula coestimuladora y un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula que contiene ITAM de señalización primaria; o el CAR comprende un dominio de reconocimiento de antígeno extracelular que se une específicamente al antígeno y un dominio de señalización intracelular que comprende una cadena CD3-zeta (CD3ζ) y una región de señalización coestimuladora que es un dominio de señalización de CD28 o 4-1BB.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el dominio de unión a antígeno es un scFv. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), una secuencia de aminoácidos de SRLHSGV (SEQ ID NO: 36), y/o una secuencia de aminoácidos de GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) y/o una secuencia de aminoácidos de DYGVS (SEQ ID NO: 38), una secuencia de aminoácidos de VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39), y/o una secuencia de aminoácidos de YAMDYWG (SEQ ID NO: 40) o en donde el scFv comprende un región de cadena pesada variable de FMC63 y una región de cadena ligera variable de FMC63 y/o una secuencia CDRL1 de FMC63, una secuencia de CDRL2 de FMC63, una secuencia de CDRL3 de FMC63, una secuencia de CDRH1 de FMC63, una secuencia de CDRH2 de FMC63 y una secuencia de CDRH3 de FMC63 o se une al mismo epítopo o compite por la unión con cualquiera de los anteriores, y, en algunos casos, en donde el scFv comprende, en orden, una V_H, un enlazador, que en algunos casos, que comprende SEQ ID NO: 24, y una V_L, y/o el scFv comprende un enlazador flexible y/o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 43.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la región de señalización coestimuladora es un dominio de señalización de CD28 o 4-1BB. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la región de señalización coestimuladora es un dominio de señalización de 4-1BB. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, el dominio coestimulador comprende la SEQ ID NO: 12 o una variante de la misma que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el dominio de señalización primario es un dominio de señalización CD3zeta. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, el dominio de señalización primario comprende la SEQ ID NO: 13, 14 o 15 que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el CAR comprende además un espaciador entre el dominio transmembrana y el scFv. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, el espaciador es un espaciador polipeptídico que comprende o consiste en toda o una porción de una bisagra de inmunoglobulina o una versión modificada de la misma, en algunos casos, una bisagra de IgG4 o una versión modificada de la misma.

En algunas de cualquiera de estas realizaciones, el espaciador tiene aproximadamente 15 aminoácidos o menos, y no comprende una región extracelular de CD28 o una región extracelular de CD8. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, el espaciador tiene exactamente o aproximadamente 12 aminoácidos de longitud. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, el espaciador tiene o consiste en la secuencia de la SEQ ID NO: 1, una secuencia codificada por la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, o una variante de cualquiera de las anteriores que tenga al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma; y/o el espaciador comprende o consiste en la fórmula X_1PPX_2P, donde X_1 es glicina, cisteína o arginina y X_2 es cisteína o treonina.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el CAR contiene un scFv específico para el antígeno, un dominio transmembrana, un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula coestimuladora, que, en algunos casos, es o contiene un 4-1BB, y un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula que contiene ITAM de señalización primaria, que, en algunos casos, es o contiene un dominio de señalización CD3zeta y, en algunos casos, contiene además un espaciador entre el dominio transmembrana y el scFv; el CAR contiene, en orden, un scFv específico para el antígeno, un dominio transmembrana, un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula coestimuladora, que, en algunos casos, es o comprende un dominio de señalización de 4-1BB y un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula que contiene ITAM de señalización primaria, que, en algunos casos, es un dominio de señalización de CD3zeta; o el CAR contiene, en orden, un scFv específico para el antígeno, un espaciador, un dominio transmembrana, un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula coestimuladora, que, en algunos casos, es un dominio de señalización de 4-1BB y un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula que contiene ITAM de señalización primaria, que, en algunos casos, es o contiene un dominio de señalización CD3zeta; y en donde: el espaciador es un espaciador polipeptídico que (a) contiene o consiste en toda o una parte de una bisagra de inmunoglobulina o una versión modificada de la misma o contiene aproximadamente 15 aminoácidos o menos, y no contiene una región extracelular CD28 o una región extracelular CD8, (b) contiene o consiste en toda o una parte de una bisagra de inmunoglobulina, que, en algunos casos, es una bisagra de IgG4, o una versión modificada de la misma y/o contiene aproximadamente 15 aminoácidos o menos, y no contiene una región extracelular CD28 o una región extracelular CD8, o (c) tiene exactamente o aproximadamente 12 aminoácidos de longitud y/o contiene o consiste en toda o una parte de una bisagra de inmunoglobulina, que, en algunos casos, es una IgG4 o una versión modificada de la misma; o (d) tiene o consiste en la secuencia de la SEQ ID NO: 1, una secuencia codificada por la SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, o una variante de cualquiera de las anteriores que tenga al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99% o más de identidad de secuencia con la misma, o (e) contiene o consiste en la fórmula X_1PPX_2P, donde X_1 es glicina, cisteína o arginina y X_2 es cisteína o treonina; y/o el dominio coestimulador contiene la SEQ ID NO: 12 o una variante de la misma que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma; y/o el dominio de señalización primario incluye la SEQ ID NO: 13, 14 o 15 que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma; y/o el scFv contiene una secuencia de aminoácidos de RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), una secuencia de aminoácidos de SRLHSGV (SEQ ID NO: 36), y/o una secuencia de aminoácidos de GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) y/o una secuencia de aminoácidos de DYGVS (SEQ ID NO: 38), una secuencia de aminoácidos de VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39), y/o una secuencia de aminoácidos de YAMDYWG (SEQ ID NO: 40) o en donde el scFv comprende un región de cadena pesada variable de FMC63 y una región de cadena ligera variable de FMC63 y/o una secuencia CDRL1 de FMC63, una secuencia de CDRL2 de FMC63, una secuencia de CDRL3 de FMC63, una secuencia de CDRH1 de FMC63, una secuencia de CDRH2 de FMC63 y una secuencia de CDRH3 de FMC63 o se une al mismo epítopo o compite por la unión con cualquiera de los anteriores, y en algunos casos en donde el scFv contiene, en orden, una V_H, un enlazador, que, en algunos casos, incluye SEQ ID NO: 24, y una V_L, y/o el scFv contiene un enlazador flexible y/o contiene la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 24.

El CAR se une específicamente a CD19. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, antes de la administración, el sujeto se ha preacondicionado con una terapia con reducción de linfocitos que incluye la administración de fludarabina y/o ciclofosfamida. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, inmediatamente antes de la administración, administrar una terapia con reducción de linfocitos al sujeto que incluye la administración de fludarabina y/o ciclofosfamida. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la administración de la dosis de células y/o la terapia con reducción de linfocitos se realiza a través de suministro ambulatorio; y si el sujeto presenta una fiebre sostenida o una fiebre que es o no se ha reducido o no se reduce en más de 1 °C después del tratamiento con un antipirético, el sujeto se admite en el hospital o pasa la noche en un hospital y/o se le administra un agente o tratamiento para el tratamiento o prevención o reducción o atenuación de una neurotoxicidad y/o un síndrome de liberación de citocinas o riesgo del mismo.

En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, la dosis de células para su uso se administra por vía parenteral. En algunas de cualquiera de estas realizaciones, la dosis de células para su uso se administra por vía intravenosa. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, los linfocitos T para su uso son linfocitos T primarios obtenidos de un sujeto. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, los linfocitos T para su uso son autólogos al sujeto. En algunas de cualquiera de las realizaciones provistas, el sujeto es un sujeto humano.

Breve descripción de los dibujos

FIG. 1 muestra el porcentaje de sujetos que experimentaron anomalías de laboratorio y acontecimientos adversos derivados del tratamiento (AADT) que ocurrieron en ≥ 20 % de los sujetos. *: Un AA de Grado 5 de insuficiencia multiorgánica no relacionada con el tratamiento del estudio y debido a la progresión del linfoma; †: Un AA de Grado 5 de daño alveolar difuso, investigador evaluado como relacionado con terapia de fludarabina, ciclofosfamida y de linfocitos T CAR, se produjo el día 23 en un sujeto que rechazó la ventilación mecánica por insuficiencia respiratoria progresiva mientras estaba neutropénico con factores de crecimiento y antibióticos y antifúngicos de amplio espectro

FIG. 2 es una curva de Kaplan Meier que representa el tiempo observado hasta la aparición de SLC y neurotoxicidad.

FIG. 3A y **FIG. 3B** representan tasas de respuesta objetiva (TRO) de 3 meses entre subgrupos de sujetos tratados.

FIG. 4A y **FIG. 4B** muestran la duración de la respuesta (RC/RP, RC o RP) y supervivencia global en la cohorte completa y central de sujetos.

FIG. 5A muestra la farmacocinética de los linfocitos T CAR^+ en sangre periférica en diversos momentos posteriores al tratamiento en diferentes niveles de dosis. **FIG. 5B** muestra la farmacocinética de los linfocitos T CAR^+ en sangre periférica en diversos momentos posteriores al tratamiento entre los sujetos que responden y los sujetos que no responden. **FIG. 5C** muestra la farmacocinética de los linfocitos T CAR^+ en sangre periférica en diversos momentos posteriores al tratamiento en sujetos que desarrollaron o no cualquier neurotoxicidad.

FIG. 6A muestra el número de linfocitos T $CAR^+/CD3^+$, $CAR^+/CD4^+$, $CAR^+/CD8^+$ en sangre periférica de un sujeto con LDLBG transformado resistente a quimioterapia medidos en determinados momentos. **FIG. 6B** representa una imagen de TEP-TAC axial previa al tratamiento que muestra una anomalía intracraneal en la fosa craneal media derecha y una anomalía extensa en los tejidos subcutáneos en la región auricular posterior derecha. **FIG. 6C** es una imagen de TEP-TAC posterior al tratamiento que muestra la resolución de la anomalía en la FIG. 2B después del tratamiento con linfocitos T CAR^+ anti-CD19. **FIG. 6D** es una IRM cerebral previa al tratamiento (T_1 de alta resolución-imagen ponderada con el uso de material de contraste; vista axial) que muestra una masa realzada homogéneamente en la fosa craneal media derecha. **FIG. 6E** es una IRM posterior al tratamiento que muestra una resolución casi completa de la masa realzada. **FIG. 6F** es una imagen de TEP-TAC axial en la recaída que muestra la recurrencia del tumor auricular posterior derecho asociada con una intensa captación de ^{18}F-flurodesoxiglucosa (flecha). **FIG. 6G** es una imagen de TEP-TAC que muestra la resolución del tumor auricular posterior después de una biopsia incisional y la reexpansión de los linfocitos T CAR^+.

FIG. 7 muestra los niveles de analitos medidos en el suero de los sujetos antes de la administración de los linfocitos T CAR^+ y la correlación con el desarrollo de neurotoxicidad.

FIG. 8 muestra un gráfico que representa el tiempo sin progresión (meses) e indica la mejor respuesta global y la durabilidad de la respuesta, y los resultados clínicos individuales observados a lo largo del tiempo en sujetos individuales dentro de una cohorte Completa y una cohorte Central de sujetos con LNH tratados con una terapia celular anti-CD19 que contiene linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ que expresan T-CAR. [a]: Los pacientes consiguieron MRG en el mes 1, excepto donde se indique lo contrario; [b] : Se observó resolución completa de la afectación del SNC por linfoma en 2 pacientes; [c] : Un paciente volvió a expandirse después de la biopsia tras la progresión de la enfermedad

FIG. 9A representa la mediana (± cuartiles) del número de células $CD3^+$ que expresan CAR/µl de sangre, evaluada mediante citometría de flujo utilizando un anticuerpo específico para un receptor truncado (CD3, círculo; N=87); o mediana (± cuartiles) del número de copias del transgén CAR integrado/µg de ADN genómico, evaluado mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) utilizando cebadores específicos para un elemento regulador postranscripcional (WPRE) del virus de la hepatitis de la marmota presente en el vector que codifica el CAR (qPCR, cuadrado; N=85) en muestras de sangre de 87 sujetos a los que se les han administrado células que expresan CAR anti-CD19. El punto de corte para la detección de células CAR^+ en citometría de flujo se estableció en ≥ 25 acontecimientos en la puerta de CAR^+, y el límite de detección para qPCR fue ≥ 12,5 copias del transgén CAR por µg de ADN genómico. **FIG. 9B** representa los números relativos de células $CD4^+$ y $CD8^+$ que expresan CAR/µl en muestras de sangre y médula ósea de 67 sujetos a los que se les han administrado células que expresan CAR anti-CD19, el día 11 ± 3 días. La línea representa la línea de unidad y no es una línea de regresión.

FIGS. 10A y **10B** representan la mediana (± cuartiles) del área bajo la curva entre los días 0 y 28 ($ABC_{0\text{-}28}$; **FIG. 10A)** y la concentración en suero máxima ($C_{máx}$; células CAR^+/µl de sangre; **FIG. 10B)** de células CAR^+ $CD4^+$ y $CD8^+$ en subgrupos de sujetos con linfoma difuso de linfocitos B grandes de novo o transformado de linfoma indolente (LDLBG, NOS; N=27), linfoma folicular transformado (LFt; N=10), LDLBG transformado de linfoma de zona marginal o leucemia linfocítica crónica (LZMt/LLCt; N=4) o linfoma de células del manto (LCM; N-5), que han recibido linfocitos T que expresan CAR en DL1.

FIGS. 11A y **11B** representan la mediana (± cuartiles) del área bajo la curva entre los días 0 y 28 (ABC_{0-28}; **FIG. 11A)** y la concentración en suero máxima ($C_{máx}$; células CAR^+/µl de sangre; **FIG. 11B)** de células CAR^+ $CD3^+$, $CD4^+$ y $CD8^+$ en sujetos que han recibido células CAR^+ en DL1 o DL2.

FIGS. 12A-12D representan la mediana (± cuartiles) del número de células CAR^+ $CD4^+$ y $CD8^+$ que expresan CAR/µl de sangre a lo largo del tiempo, en sujetos que desarrollaron síndrome de liberación de citocinas (cualquier SLC) en comparación con sujetos que no desarrollaron SLC (ningún SLC) ($CD4^+$: **FIG. 12A;** $CD8^+$: **FIG. 12B)** o en sujetos que desarrollaron neurotoxicidad (cualquier NT) en comparación con sujetos que no desarrollaron NT (ninguna NT) ($CD4^+$: **FIG. 12C;** $CD8^+$: **FIG. 12D).**

FIGS. 13A y **13B** representan el número de células $CD3^+$ CAR^+ máximas/µl ($C_{máx}$ de $CD3^+$) en sujetos agrupados por sujetos que tuvieron la mejor respuesta global (MRG) de RC, RP o PE, o una respuesta duradera de RC a los 3 meses (M3), RP o PE.

FIG. 14A representa los niveles de analitos en sangre previos a la reducción de linfocitos en muestras de suero de sujetos que exhibieron una alta expansión de células CAR^+ ($C_{máx}$ de $CD3^+ > 500$) y sujetos que exhibieron baja expansión de células CAR^+ ($C_{máx}$ de $CD3^+ <500$). **FIG. 14B** representa los niveles de analitos en sangre máximos en muestras de suero de sujetos que exhibieron una alta expansión de células CAR^+ ($C_{máx}$ de $CD3^+ > 500$) y sujetos que exhibieron baja expansión de células CAR^+ ($C_{máx}$ de $CD3^+ <500$).

FIG. 15 representa un gráfico que representa la SPD previa a la reducción de linfocitos (cm^2) contra el ABC_{0-28} (células*día/µl) de células $CD3^+$ CAR^+, para sujetos individuales a los que se les administró DL1 o DL2 de células CAR^+.

FIGS. 16A y **16B** representan los niveles de analitos en sangre previos a la reducción de linfocitos en muestras de suero de sujetos que desarrollaron síndrome de liberación de citocinas (SLC grado 1-4) en comparación con sujetos que no desarrollaron SLC (SLC grado 0) **(FIG. 16A)** o en sujetos que desarrollaron neurotoxicidad (NT grado 0) en comparación con sujetos que no desarrollaron NT (NT grado 1-4) **(FIG. 16B).** Las unidades fueron: ferritina y dímero D (µg/l); PCR (mg/l) y citocinas (pg/ml).

FIG. 17 representa la evaluación de la suma de dimensiones de producto (SPD; cm^2) de parámetros del paciente previa a la reducción de linfocitos, indicativa de carga tumoral, y el nivel de lactato deshidrogenasa (LDH; U/l), en sujetos que desarrollaron síndrome de liberación de citocinas (cualquier SLC) en comparación con sujetos que no desarrollaron SLC (ningún SLC) o en sujetos que desarrollaron neurotoxicidad (cualquier NT) en comparación con sujetos que no desarrollaron NT (ninguna NT).

FIG. 18A es un gráfico que representa la SPD (cm^2) previa a la reducción de linfocitos contra los niveles de LDH (U/l) previos a la reducción de linfocitos, en individuos que han desarrollado neurotoxicidad (NT Grado 1-4) o sujetos que no han desarrollado NT (NT Grado 0) (panel izquierdo), y en individuos que han desarrollado SLC (SLC Grado 1-4) o sujetos que no han desarrollado SLC (SLC Grado 0) (panel derecho). Las líneas punteadas representan niveles de SPD (50 cm^2 o superior) o LDH (500 U/l o superior) que se asocian con tasas más altas de SLC o NT. **FIG. 18B** muestra las estimaciones de la razón de posibilidades para desarrollar SLC o NT en función de los niveles de SPD (50 cm^2 o superior) o LDH (500 U/L o superior), con intervalos de confianza (IC) del 95 %. **FIG. 18C** muestra las estimaciones de la razón de posibilidades para desarrollar SLC o NT en función de los niveles de SPD o LDH, incluyendo las estimaciones de la razón de posibilidades para valores inferiores al umbral, con intervalos de confianza (IC) del 95 %.

FIG. 19 representa el parámetro de carga tumoral (SPD) previo a la reducción de linfocitos y los niveles de analitos en sangre para los sujetos que tuvieron una respuesta duradera a los 3 meses versus los sujetos que no tuvieron una respuesta a los 3 meses. Las unidades fueron: ferritina y dímero D (µg/l); PCR y SAA-1 (mg/l) y citocinas (pg/ml).

FIGS. 20A y **20B** representan los niveles de analitos en sangre máximos en muestras de suero de sujetos que desarrollaron síndrome de liberación de citocinas (cualquier SLC) en comparación con sujetos que no desarrollaron SLC (ningún SLC) **(FIG. 20A)** o en sujetos que desarrollaron neurotoxicidad (cualquier NT) en comparación con sujetos que no desarrollaron NT (ninguna NT) **(FIG. 20B).** Las unidades fueron: PCR (mg/l), SAA-1 (mg/l) y citocinas (pg/ml).

FIG. 21A representa los niveles de analitos en sangre máximos en muestras de suero de sujetos que tuvieron una mejor respuesta global (MRG) de respuesta completa (RC) o respuesta parcial (RP) (N = 57) en comparación con los niveles en sujetos que tenían cáncer estable (CE) o progresión de la enfermedad (PE) (N=17). **FIG. 21B** representa los niveles de analito en sangre máximos en muestras de suero de sujetos que tuvieron una respuesta de 3 meses de CE/PE (N=31), en comparación con sujetos que tuvieron una respuesta de 3 meses de RC/RP (N=35). Las unidades fueron: PCR (mg/l), SAA-1 (mg/l) y citocinas (pg/ml).

FIG. 22 representa las tasas de respuesta objetiva (TRO) a los 3 meses entre subgrupos de sujetos tratados, con el

intervalo de confianza del 95 %.

FIGS. 23A y **23B** representan la duración de la respuesta (DR) para la cohorte completa **(FIG. 23A)** y la cohorte central **(FIG. 23B),** y las **FIGS. 23C** y **23D** representan la supervivencia global de la cohorte completa **(FIG. 23C)** y la cohorte central **(FIG. 23D),** para sujetos que consiguieron RC, RP, todos los sujetos que mostraron una respuesta, sujetos que no respondieron y todos los sujetos tratados. La mediana de F/U fue de 6,3 meses para la duración de la respuesta.

FIG. 24 muestra el porcentaje de sujetos que experimentaron acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) en la cohorte COMPLETA de LDLBG que se produjeron en ≥20 % de los pacientes. No se incluyeron los datos de 5 pacientes con LCM tratados con producto conforme en DL1 con al menos 28 días de seguimiento. [b] : Un AA grado 5 de choque séptico no relacionado con la administración de linfocitos T CAR^+. [c] : Un AA de grado 5 de daño alveolar difuso, investigador evaluado como relacionado con terapia de fludarabina, ciclofosfamida y linfocitos T CAR^+, se produjo el día 23 en un paciente que rechazó la ventilación mecánica por insuficiencia respiratoria progresiva mientras estaba neutropénico con factores de crecimiento y antibióticos y antifúngicos de amplio espectro. [d] : Alteraciones de laboratorio.

FIG. 25 muestra el porcentaje de sujetos que desarrollaron SLC o neurotoxicidad con el tiempo, en la cohorte completa.

FIG. 26 muestra diagramas de cajas que muestran la pureza de los linfocitos T de composiciones de linfocitos T enriquecidas con células $CD4^+$ y $CD8^+$ en diferentes etapas del proceso para generar composiciones celulares modificadas por ingeniería genética que contienen linfocitos T-CAR que se describe en el Ejemplo 8. Se muestra la frecuencia (% de leucocitos totales) de células $CD4^+$y $CD8^+$ en las composiciones.

FIGS. 27A-27C muestran diagramas de cajas que muestran la concentración **(FIG. 27A),** viabilidad **(FIG. 27B),** y frecuencia de caspasa-3 negativa **(FIG. 27C)** de linfocitos T CAR^+ $CD4^+$ y $CD8^+$ en composiciones celulares terapéuticas de un volumen de formulación alto o bajo.

FIG. 28A muestra el número de linfocitos T $CD3^+$ CAR^+ presentes en composiciones de linfocitos T-CAR para administración en DL1 y DL2. **FIG. 28B** muestra el número de células $CD4^+CAR^+$ y $CD8^+CAR^+$ y células $CD4^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ y células $CD8^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ presentes en composiciones de linfocitos T-CAR para administración en DL1 y DL2.

FIG. 29 muestra el porcentaje de sujetos que experimentaron acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) en la cohorte COMPLETA de LDLBG que se produjeron en ≥20 % de los sujetos en un momento del estudio descrito en el Ejemplo 6. No se incluyeron los datos de 6 sujetos con LCM tratados con producto conforme en DL1 con al menos 28 días de seguimiento. [b] : Un AA grado 5 de choque séptico no relacionado con la administración de linfocitos T CAR^+, se produjo en el contexto de la progresión de la enfermedad. [c] : Un AA de grado 5 de daño alveolar difuso, investigador evaluado como relacionado con terapia de fludarabina, ciclofosfamida y linfocitos T CAR+, se produjo el día 23 en un paciente que rechazó la ventilación mecánica por insuficiencia respiratoria progresiva mientras estaba neutropénico con factores de crecimiento y antibióticos y antifúngicos de amplio espectro. [d] : Alteraciones de laboratorio.

FIG. 30 representa las tasas de respuesta objetiva (TRO) a los seis (6) meses entre subgrupos de sujetos tratados, con el intervalo de confianza del 95 %. [a] Incluye todos los sujetos con LDLBG tratados con todos los niveles de dosis en la cohorte CENTRAL.

FIGS. 31A y **31B** representan la duración de la respuesta (DR) para la cohorte completa **(FIG. 31A)** y la cohorte central **(FIG. 31B),** y las **FIGS. 31C** y **31D** representan la supervivencia global de la cohorte completa **(FIG. 31C)** y la cohorte central **(FIG. 31D),** para sujetos que consiguieron RC, RP, todos los sujetos que mostraron una respuesta, sujetos que no respondieron y todos los sujetos tratados. AN, no estimable.

FIGS. 32A-32F muestran el uso de diversos parámetros de recursos sanitarios (media de días de hospitalización, media de días en la unidad de cuidados intensivos (UCI), % uso de tocilizumab y % de uso de vasopresor, de intubación o diálisis, duración media de la estancia hospitalaria) en sujetos agrupados por: $C_{máx}$ de exactamente o inferior 500 células/µl o superior a 500 células/µl de células CAR^+/µl **(FIG. 32A);** SPD exactamente o inferior a 50 cm^2 o superior a 50 cm^2 **(FIG. 32B);** LDH exactamente o inferior a 500 unidades/l o superior a 500 unidades/l **(FIG. 32C);** PCR exactamente o inferior a 10 mg/l y ferritina exactamente o inferior a 5000 ng/ml o PCR superior a 10 mg/l y ferritina superior a 5000 ng/ml **(FIG. 32D),** y en un entorno hospitalario o entorno ambulatorio **(FIGS. 32E-32F).**

FIG. 33 representa la puntuación media del estado de salud ponderada por preferencia para los sujetos desde el inicio hasta los 6 meses posteriores a la infusión de composiciones de linfocitos T CAR^+.

FIG. 34 representa el cambio medio desde el punto de partida para los sujetos desde el punto de partida hasta 6 meses después de la infusión de composiciones de linfocitos T CAR^+.

FIG. 35 representa la proporción de sujetos con cambios clínicamente significativos en las puntuaciones de utilidad del estado de salud evaluadas desde el inicio hasta 6 meses después de la infusión de composiciones de linfocitos T CAR^+.

FIGS. 36A-36E muestran el porcentaje de pacientes que informan de problemas moderados, graves o extremos con las dimensiones de movilidad **(FIG. 36A),** cuidados personales **(FIG. 36B),** actividades habituales **(FIG. 36C),** dolor/malestar **(FIG. 36D)** y ansiedad/depresión **(FIG. 36E)** desde el inicio hasta 6 meses después de la infusión de composiciones de linfocitos T CAR+.

FIG. 37 muestra las puntuaciones medias de calificación de salud global (EQ-VAS) para los sujetos desde el inicio hasta los 6 meses posteriores a la infusión de composiciones de linfocitos T CAR+.

FIG. 38 muestra el cambio medio desde el inicio en las puntuaciones EQ-VAS para los sujetos desde el inicio hasta 6 meses después de la infusión de composiciones de linfocitos T CAR+.

FIG. 39 muestra la expansión de linfocitos T-CAR por nivel de dosis para el nivel de dosis 1 (DL1) y el nivel de dosis 2 (DL2).

FIG. 40 muestra métodos para identificar la utilización de recursos sanitarios (HRU) dentro de las fechas de aparición y resolución de SLC y AN.

FIG. 41 muestra los costes de instalaciones, medicamentos y diagnóstico para sujetos con linfoma no Hodgkin recurrente y resistente a tratamiento después de la administración de células que expresan CAR anti-CD 19.

FIG. 42 muestra perfiles de expresión génica diferencial en biopsias de tumores previas al tratamiento en sujetos que muestran una respuesta completa (RC) o progresión de la enfermedad (PE) a los 3 meses después del tratamiento.

FIG. 43 muestra diversos conjuntos de genes enriquecidos asociados con PE a los 3 meses después del tratamiento, incluidos genes expresadosmás altamente en muestras de líneas celulares de linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) en comparación con muestras de líneas celulares de linfoma folicular (LF; FL_DLBCL_DN).

FIG. 44 muestra la expresión génica diferencial entre biopsias de tumores de LF y biopsias de tumores de LDLBG.

FIGS. 45A-45B muestran expresión génica diferencial de genes a modo de ejemplo EZH2 (FIG. 45A) y CD3ε **(FIGURA 45B)** entre tumores de LF y LDLBG.

FIGS. 46A y **46B** muestran las puntuaciones del Análisis de Enriquecimiento de Conjuntos de Genes de una sola muestra (ssGSEA) entre los genes que se encuentran elevados en LDLBG (denominado "conjunto de genes de LDLBG"; **FIG. 46A)** versus en LF (denominado "conjunto de genes de LF"; **FIG. 46B)** y sujetos que exhibieron una RC o sujetos que exhibieron PE, e ilustra que los sujetos que tienen perfiles de expresión de genes tumorales más similares a los observados en LF, en comparación con los observados en LDLBG, tenían más probabilidades de mostrar RC a los 3 meses después del tratamiento.

FIG. 47 muestra una visión general de los estudios por líneas de tratamiento, subtipos de enfermedad y subpoblaciones de linfoma de linfocitos B grandes recurrente/resistente a tratamiento (LLBG R/R). LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; FL3B, linfoma folicular grado 3B; LLBMP, linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario; ECA, ensayo controlado aleatorizado; R/R, recurrente/resistente a tratamiento; LSSNC, linfoma secundario del sistema nervioso central; [a] el recuento de estudios enumerados en la figura excede un total de 78 debido a que se informaron múltiples subgrupos dentro de algunas publicaciones; [b] la "población mixta de trasplantes" incluye estudios en donde se inscribieron tanto pacientes elegibles para trasplante como no elegibles para trasplante. "Población mixta" incluye estudios en donde no se especificó la población.

FIG. 48 muestra una visión general de los sujetos que fueron sometidos a leucocitaféresis y, en consecuencia, se trataron con terapia de linfocitos T CAR+, y el régimen de tratamiento utilizado para evaluar los resultados en todos los niveles de dosis DL1, DL1D, DL2 y DL3.

FIGS. 49A-49C representan los resultados de eficacia y respuesta entre sujetos evaluables para la respuesta, incluyendo la mediana de DR **(FIG. 49A),** la mediana de SSP entre sujetos con RC **(FIG. 49B),** y la mediana de SG entre los sujetos que consiguieron RC **(FIG. 49C).**

FIGS. 50A-50B representan las respuestas observadas en todos los subgrupos para todos los sujetos evaluables y sujetos con respuesta que incluye la tasa de respuesta objetiva **(FIG. 50A)** y tasa de respuesta completa **(FIG. 50B).**

FIGS. 51A-51F representan la duración de la respuesta por los subgrupos en relación con la supervivencia sin progresión **(FIG. 51A),** por subgrupo histológico **(FIG. 51B),** por terapia de transición **(FIG. 51C),** por estado sensible a la quimioterapia versus resistente a la quimioterapia **(FIG. 51D),** por estado de SPD previo a LDC **(FIG. 51E),** por grupo de edad **(FIG. 51F)** y duración de la respuesta en sujetos con versus sin comorbilidades **(FIG. 51G).**

FIGS. 52A-52B representan las respuestas evaluadas como cambio medio (EE) desde el inicio en el estado de salud global **(FIG. 52A)** y funcionamiento físico **(FIG. 52B).**

FIGS. 53A-53B representan las respuestas evaluadas como cambio medio (EE) desde el inicio para la fatiga **(FIG. 53A)** y dolor **(FIG. 53B).**

FIGS. 54A-54D representar los resultados de sujetos evaluables para el cuestionario EORTC QLQ-C30 que experimentaron una mejora clínicamente significativa, ningún cambio de estado o deterioro, en áreas que incluyen el estado de salud global **(FIG. 54A),** funcionamiento físico **(FIG. 54B;** con excepción del mes 1), fatiga **(FIG. 54C)** y dolor **(FIG. 54D).**

FIGS. 55A-55B representan las respuestas de los sujetos evaluables para el cuestionario EORTC QLQ-C30 evaluados como cambio medio (EE) desde el inicio para la puntuación del índice de estado de salud **(FIG. 55A)** y EQ-VAS **(FIG. 55B).**

FIG. 56 representa los resultados de sujetos individuales monitoreados como pacientes hospitalizados o ambulatorios evaluados para determinar la eficacia y respuesta objetiva.

FIG. 57 representa el porcentaje de sujetos con SLC, AN o tanto SLC como AN que habían recibido tocilizumab, tocilizumab y esteroides, vasopresores o esteroides únicamente.

FIG. 58 representa la probabilidad de respuesta continua y la duración de la respuesta entre sujetos evaluables para respuesta de sujetos que responden de manera completa (RC) y sujetos que responden de manera parcial (RP) con una mediana de seguimiento (IC del 95 %) de 12 meses (rango de 11,2 a 16,7).

FIG. 59 representa la tasa de respuesta global (ORR) y la respuesta completa (RC), con un intervalo de confianza del 95 %, entre sujetos con diferentes características clínicas, incluida la edad, subtipo de LLBG, uso de terapia de transición, presencia de una alta carga de enfermedad, TCMH previo y linfoma secundario del SNC.

FIG. 60 representa la probabilidad de supervivencia sin progresión (SSP) para sujetos evaluados mediante respuesta objetiva, incluyendo sujetos que responden de manera completa (RC), sujetos que responden de manera parcial (RP), sujetos que no responden y un promedio total.

FIG. 61 representa la probabilidad de supervivencia global (SG) para los sujetos evaluados mediante respuesta objetiva, incluyendo sujetos que responden de manera completa (RC), sujetos que responden de manera parcial (RP), sujetos que no responden y un promedio total.

FIG. 62 representa la supervivencia sin progresión (SSP) por subtipo histológico, incluido LHG, LFt, LLBMP, LNHti y LDLBG, NOS.

FIG. 63 representa los parámetros cinéticos celulares para los linfocitos T CAR+ (linfocito B CD19+, receptor truncado CD3+ y transgén) analizados mediante qPCR y citometría de flujo versus linfocitos B CD19+ para 261 sujetos por día de estudio.

FIG. 64 representa los parámetros cinéticos celulares para los linfocitos T CAR+ (receptor truncado CD3+, CD4+ y CD8+) analizados por día de estudio mediante citometría de flujo.

Descripción detallada

Las realizaciones de la invención caen dentro de algunos de los casos que se divulgan a continuación. Cualquier referencia en el presente documento a métodos de tratamiento pretende referirse a los productos para su uso en dichos métodos.

I. MÉTODOS Y USOS DE LA TERAPIA CELULAR CON CÉLULAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE

En el presente documento se divulgan métodos y usos de células modificadas por ingeniería genética (por ejemplo, linfocitos T) y/o composiciones de las mismas, para el tratamiento de sujetos que tienen una enfermedad o afección, que generalmente es o incluye un cáncer o un tumor, tal como una leucemia o un linfoma, más particularmente una neoplasia maligna de linfocitos B o un linfoma no Hodgkin (LNH). En divulgaciones particulares de cualquiera de los métodos que se divulgan, los linfocitos T están diseñados con un receptor de antígeno quimérico (CAR) que está dirigido contra CD19. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma de linfocitos B. En algunas

divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma de linfocitos B grandes. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) o un subtipo del mismo. En algunas divulgaciones, los métodos y usos proporcionan o consiguen una respuesta mejorada y/o respuestas o una eficacia más duraderas y/o un riesgo reducido de toxicidad u otros efectos secundarios, por ejemplo, en grupos particulares de sujetos tratados, en comparación con determinados métodos alternativos. En algunas divulgaciones, los métodos son ventajosos en virtud de la administración de números específicos o números relativos de las células modificadas por ingeniería genética, la administración de relaciones definidas de tipos particulares de las células, el tratamiento de poblaciones de pacientes particulares, tales como aquellos que tienen un perfil de riesgo particular, la estadificación y/o los antecedentes de tratamientos anteriores y/o combinaciones de los mismos.

También se divulgan métodos que incluyen evaluar parámetros particulares, por ejemplo, la expresión de biomarcadores o analitos específicos, que pueden correlacionarse con el desarrollo de toxicidad, y métodos de tratamiento, por ejemplo, terapia de intervención, para prevenir y/o mejorar toxicidades. También se divulgan métodos que implican evaluar parámetros particulares, por ejemplo, la expresión de biomarcadores o analitos específicos, que puede correlacionarse con un resultado, tal como un resultado terapéutico, incluyendo una respuesta, tal como una respuesta completa (RC) o una respuesta parcial (RP), que en algunos casos es una respuesta duradera, como una respuesta que sea duradera durante al menos 3 meses, 6 meses o más; o un resultado de seguridad, tal como el desarrollo de una toxicidad, por ejemplo, neurotoxicidad o SLC, después de la administración de una inmunoterapia y/o terapia celular. También se divulgan métodos para evaluar la probabilidad de respuesta y/o probabilidad de riesgo de toxicidad, basándose en la evaluación de los parámetros, tales como la expresión de biomarcadores o analitos. También se divulgan composiciones para su uso en terapia celular. También se divulgan artículos de fabricación y kits, por ejemplo, para su uso en los métodos que se divulgan en el presente documento. En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación y los kits contienen también instrucciones de uso, de acuerdo con los métodos que se divulgan en el presente documento.

En algunas divulgaciones, los métodos y usos incluyen administrar al sujeto células que expresan receptores de superficie celular modificados genéticamente (recombinantes) en terapia celular adoptiva, que generalmente son receptores quiméricos tales como receptores de antígenos quiméricos (CAR), que reconocen un antígeno expresado por, asociado a y/o específico de la leucemia o linfoma y/o tipo celular del que deriva. Las células se administran generalmente en una composición formulada para la administración; los métodos generalmente implican administrar una o más dosis de las células al sujeto, una o más dosis que pueden incluir un número particular o número relativo de células o de las células modificadas por ingeniería genética y/o una relación definida o composiciones de dos o más subtipos dentro de la composición, tales como linfocitos T CD4 frente a CD8.

En algunas divulgaciones, las células, poblaciones y composiciones se administran a un sujeto que tiene la enfermedad o afección particular que se ha de tratar, por ejemplo, a través de terapia celular adoptiva, tal como terapia adoptiva de linfocitos T. En algunas divulgaciones, los métodos implican tratar a un sujeto que tiene un linfoma o una leucemia, o una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B o un linfoma no Hodgkin (LNH) con una dosis de células que expresan receptores de antígenos (por ejemplo, células que expresan CAR).

En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan implican tratar a un grupo o subconjunto específico de sujetos, por ejemplo, sujetos identificados como que tienen una enfermedad de riesgo alto, por ejemplo, LNH de alto riesgo o linfoma de linfocitos B grandes de alto riesgo. En algunas divulgaciones, los métodos tratan a sujetos que tienen una forma de linfoma no Hodgkin (LNH) de linfocitos B agresivo y/o de mal pronóstico, tal como LNH que ha recaído o es resistente a tratamiento (R/R) con respecto a la terapia convencional y tiene un mal pronóstico. En algunas divulgaciones, los métodos tratan a sujetos que tienen un linfoma de linfocitos B grandes que ha recaído o es resistente a tratamiento (R/R) con respecto a la terapia convencional. En algunos casos, la tasa de respuesta global (TRG; también conocida en algunos casos como tasa de respuesta objetiva) a las terapias disponibles, a un tratamiento de referencia (SOC) o a una terapia de referencia para la enfermedad y/o población de pacientes para la que está indicada la terapia, es inferior al 40 % y/o la respuesta completa (RC; también conocida en algunos casos como remisión completa) es inferior al 20 %. En algunas divulgaciones, en LDLBG resistente a quimioterapia, la TRG con un tratamiento de referencia o disponible o una terapia de referencia es de aproximadamente el 26 % y la tasa de RC es de aproximadamente el 8 % (Crump et al. Outcomes in refractory aggressive diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): Resultados del estudio internacional SCHOLAR. ASCO 2016 [Resumen 7516]). En algunas divulgaciones, los métodos, composiciones, usos y artículos de fabricación que se divulgan consiguen respuestas mejoradas y superiores a las terapias disponibles. En algunas divulgaciones, las respuestas mejoradas o superiores son con respecto al tratamiento de referencia (SOC). En algunas divulgaciones, el SOC actual para el tratamiento de neoplasias malignas de linfocitos B, tal como un LNH de linfocitos B, linfoma no hodgkiniano (LNH), incluye hasta 3 ciclos de quimioterapia de alta dosis de rituximab, dexametasona, citarabina (AraC) y cisplatino (R-DHAP), rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido (R-ICE), o rituximab, gemcitabina, dexametasona y cisplatino (R-GDP), seguidos de carmustina, etopósido, citarabina y melfalán (BEAM) y trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) en sujetos que respondieron (véase, por ejemplo, Crump et al., J Clin Oncol. 2014; 32(31):3490-6; Gisselbrecht, et al., J Clin Oncol. 2010;28(27):4184-90; van Imhoff et al., J Clin Oncol. 2017;35(5):544-51).

El linfoma de linfocitos B grandes (LLBG) es el subtipo más común de linfoma no Hodgkin (LNH). El tratamiento de

primera línea es curativo en aproximadamente el 60% de los sujetos; sin embargo, aproximadamente el 30 % de los sujetos recaen y aproximadamente el 10 % son resistentes al tratamiento de primera línea. Opciones de tratamiento para sujetos con enfermedad recurrente/resistente a tratamiento (R/R), especialmente como terapia de tercera línea o mayor (3L+), incluyen principalmente quimioterapias (CT) de rescate. Se han aprobado como terapia de tercera línea dos productos de linfocitos T con receptor de antígeno quimérico (CAR) y un conjugado de anticuerpo y fármaco. Se identificaron necesidades médicas no satisfechas dentro de la terapia de segunda línea y mayor (2L+) o 3L+ para el LLBG R/R con base en una revisión sistemática de la literatura (SLR) de la evidencia sobre los resultados clínicos en sujetos con LLBG, incluyendo las nuevas terapias enumeradas anteriormente.

Basándose en una SLR a modo de ejemplo, realizada de acuerdo con el Manual Cochrane para revisiones sistemáticas de intervenciones y los requisitos de evaluación de tecnologías sanitarias de la Unión Europea para la detección de registros de bases de datos 8683 y fuentes adicionales, se identificaron 103 publicaciones que cubren 78 estudios únicos. La revisión identificó estudios observacionales/aleatorizados y no aleatorizados dentro de LLBG R/R, incluyendo linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), linfoma folicular grado 3B (LF3B), linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP), LDLBG transformado a partir de linfomas indolentes y LDLBG R/R con afectación secundaria del sistema nervioso central (SSNC). Las fuentes revisadas incluyeron EMBASE, MEDLINE, La Biblioteca Cochrane y las conferencias clínicas (ASCO, ESMO, EHA, ASH, ICML, AACR y EORTC). Un esquema a modo de ejemplo que representa la SLR está representado en la FIG. 47. Los estudios identificados se caracterizaron por línea de tratamiento y subtipo de LLBG R/R. Se describieron la SVG, SSP, DR, RO y la seguridad observados en los estudios identificados. Subtipos de enfermedades, criterios de elegibilidad de los sujetos y la duración del seguimiento variaron notablemente entre los estudios.

Basándose en la SLR a modo de ejemplo, en la población de 3L+, 11 estudios de CT de rescate y 2 de terapia de linfocitos T-CAR informaron resultados de supervivencia. Con CT de rescate, la TRO informada en todos los estudios osciló entre el 0 % y el 54 %, mientras que la RC osciló entre el 5,6 % y el 31 %. La mediana de SVG (mSVG) osciló entre 3-9 meses, informando un estudio periférico una mSVG a los 20 meses. La mediana de SSP (mSSP) informada en los estudios de CT de rescate osciló entre 2-6 meses. Entre las terapias de linfocitos T-CAR, los sujetos tratados con una terapia de linfocitos T-CAR anti-CD19 (n = 101) informaron una tasa de RC del 58 % y la mediana de DR (mDR) fue de 11,1 meses después de una mediana de seguimiento de 27,1 meses. La mSSP fue de 5,9 meses y no se alcanzó la mSVG. En una mediana de seguimiento de 19,3 meses, los sujetos tratados con otra terapia de linfocitos T-CAR anti-CD19 (n=115) tuvieron una RC del 40 % pero no se alcanzó la mDR. La mSVG fue de 11,1 meses para todos los pacientes tratados con infusión.

En la población 2L+ elegible para trasplante (36 estudios), los sujetos que recibieron CT en dosis altas + TCMH consiguieron mSVG entre 9 meses y 5 años. En la población no elegible para trasplante, 16 estudios informaron mSVG entre 3-20 meses. Los estudios que involucraron poblaciones mixtas elegibles y no elegibles para trasplantes (30 estudios) informaron mSVG de 1-17 meses.

Se encontró que algunos estudios con tamaños de muestra limitados informaron resultados en los subtipos de LLBG (p. ej., LLBMP, linfoma SSNC, LDLBG transformado a partir de linfoma indolente distinto de LF, LF3B). En el entorno 3L+, 1 estudio informó que no se alcanzó mSVG después de una mediana de 6,6 meses. En el entorno 2L+, 4 estudios informaron resultados de mSSP y mSVG que oscilaron entre 2-9 meses y 10-16 meses, respectivamente.

Entre los estudios que evalúan la seguridad de las quimioterapias de rescate en LLBG R/R, neutropenia, leucocitopenia, trombocitopenia e infecciones fueron los acontecimientos adversos (AA) más comunes informados, siendo neutropenia el más informado. Entre los 3 estudios que informaron resultados de seguridad de la terapia de linfocitos T-CAR, los datos indicaron que los AA hematológicos (posiblemente relacionados con la CT con reducción de linfocitos), el síndrome de liberación de citocinas y la neurotoxicidad son los más informados.

Basándose en estudios a modo de ejemplo, menos del 50 % de los pacientes con linfoma de linfocitos B grandes (LLBG) recurrente/resistente a tratamiento consiguen respuestas a tratamientos de tercera línea o posteriores (Van Den Neste et al. Bone Marrow Transplant. 2016;51:51-7; Gonzalez-Barca E et al. Bone Marrow Transplant 2019). La quimioterapia en dosis altas con trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (TCMH) sigue siendo el tratamiento de referencia en la primera recaída en pacientes elegibles para trasplante con enfermedad sensible a la quimioterapia (National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology. 6 de marzo de 2019), pero la mayoría de los pacientes no se curarán con este enfoque (Van Den Neste et al. Bone Marrow Transplant. 2016;51:51-7; Gonzalez-Barca E et al. Bone Marrow Transplant 2019, National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology. 6 de marzo de 2019, Gisselbrecht C et al. J Clin Oncol. 2010; 28:4184-90). En algunos estudios, los resultados son peores en sujetos con enfermedad resistente a la quimioterapia, con una tasa de respuesta completa (RC) al tratamiento convencional del 7 % y una supervivencia general (SVG) de 6 meses. (Crump et al. Blood. 2017;130:1800-8). Los resultados adversos se asociaron con la edad avanzada, afectación del sistema nervioso central (SNC) (Thanarajasingam et al. H. J. Haematol. 2018;183:149-52; Nabhan et al. J Clin Oncol. 2018; 36:7545) y comorbilidades (Pfreundschuh Blood. 2010;116:5103-10).

Ciertas terapias de linfocitos T-CAR dirigidos a CD19 están disponibles para el tratamiento del linfoma de linfocitos

B, incluyendo axicabtagene ciloleucel (axi-cel) y tisagenlecleucel. En un estudio a modo de ejemplo, los sujetos tratados con axi-cel consiguieron tasas de RC (por investigador) del 54 %, con un 40 % en remisión duradera (mediana de seguimiento, 15,4 meses) (Neelapu et al. N Engl Med. 2017. 377;2531-44). La mayoría de los sujetos desarrollaron SLC (93 %) y AN (64 %), con una mediana de tiempo hasta el inicio de 2 y 5 días, respectivamente, y SLC de grado ≥3 (criterios de calificación de Lee (Lee et al. Blood. 2014;124:188-95)) y los AN se produjeron en el 13 % y el 28 %, respectivamente, y el 43 % recibió tocilizumab (27 % recibió corticosteroides). En otro estudio a modo de ejemplo, aproximadamente un tercio de los pacientes que recibieron tisagenlecleucel mantuvieron una remisión duradera a 1 año (Schuster et al. N Engl J Med. 2019. 380:45-56). La mayoría de los sujetos (58 %) desarrollaron SLC, mientras que el 21 % tuvieron AN. SLC de grado ≥3 (criterios de calificación de Penn, Porter et al. J Hematol Oncol. 2018;11:35) y AN se informaron en el 22 % y el 12 % de los pacientes, respectivamente (Schuster et al. N Engl J Med. 2019. 380:45-56). Además, estas terapias no incluyen el tratamiento de ciertos pacientes de alto riesgo, incluyendo paciantes con LLBMP, LDLBG transformado a partir de un linfoma indolente distinto de LF, LF3B, y pacientes con ciertas características de alto riesgo, como el linfoma secundario del SNC, comorbilidades renales/cardíacas moderadas y necesidad de terapia de transición.

La SLR y el examen de la evidencia actual demostraron una importante y elevada necesidad insatisfecha de opciones terapéuticas adicionales que proporcionen beneficio/riesgo favorable y una respuesta duradera, que no se cumple con las terapias disponibles para sujetos con LLBG 2L+ y 3L+. Además, estaban disponibles datos limitados para los subtipos más raros de LLBG. Estos hallazgos revelaron importantes lagunas en el tratamiento del LLBG R/R que deben abordarse y la necesidad de mejorar los tratamientos existentes. Los ejemplos divulgados en el presente documento pueden satisfacer tales necesidades.

En algunas divulgaciones, los métodos, usos y artículos de fabricación implican, o se usan para el tratamiento de sujetos que implican, seleccionar o identificar un grupo o subconjunto particular de sujetos, por ejemplo, basándose en tipos específicos de enfermedad, criterios de diagnóstico, tratamientos anteriores y/o respuesta a tratamientos anteriores. En algunas divulgaciones, los métodos implican tratar a un sujeto que ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió refractario a, una o más terapias anteriores; o a un sujeto que ha recaído o es refractario (R/R) a una o más terapias anteriores, por ejemplo, una o más líneas de terapia convencional.

En algunas divulgaciones, el sujeto tiene una neoplasia maligna de linfocitos B, como un linfoma de linfocitos B y/o un linfoma no Hodgkin (LNH). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B grandes, por ejemplo, un linfoma de linfocitos B grandes recurrente/resistente a tratamiento (R/R). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene un linfoma de linfocitos B grandes, como un linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) (p. ej., un LDLBG no especificado de otra manera (NOS; de novo o transformado de indolente) u otro LDLBG). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene un linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) o un linfoma folicular (LF), como un linfoma folicular grado 3B (LF3B). En algunas divulgaciones, el linfoma de linfocitos B es o incluye un linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), linfoma folicular o LLBMP. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene un LDLBG que es un LDLBG, no especificado de otra manera (NOS). En algunas divulgaciones, el linfoma, tal como el LDLBG, es de novo. En algunas divulgaciones, el linfoma, tal como el LDLBG, se transforma a partir de otro linfoma indolente. En algunas divulgaciones, el linfoma, tal como el LDLBG, se transforma a partir de un linfoma folicular (LFt). En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto tiene linfoma folicular (LF).

En divulgaciones particulares, los métodos descritos en el presente documento se basan en la administración de una terapia de linfocitos T-CAR dirigidos a CD19 en la que el CAR contiene un dominio de unión al antígeno scFv dirigido a CD19 (por ejemplo, de FMC63). El CAR contiene además un dominio de señalización intracelular que contiene un dominio de señalización de CD3zeta y también incorpora un dominio coestimulador 4-1BB, que se ha asociado con una menor incidencia de SLC y AN en comparación con las construcciones que contienen CD28 (Lu et al. J Clin Oncol. 2018;36:3041). En algunas divulgaciones, los métodos divulgados en el presente documento incluyen subconjuntos de linfocitos T CD8+ y CD4+ que se transducen y expanden por separado in vitro y se administran en dosis objetivo iguales (aproximadamente 1:1). En algunas divulgaciones, hay baja variabilidad en las dosis administradas de linfocitos T CAR+ CD8+ y totales, dos parámetros asociados con una mayor toxicidad en estudios previos (Neelapu et al. N Engl Med. 2017. 377;2531-44; Turtle et al. Sci Transl Med. 2016;8:355ra116; Hay et al. Blood. 2017;130:2295-306).

En divulgaciones particulares, los métodos divulgados se pueden usar para tratar subtipos de LLBG particulares o grupos de alto riesgo, como pacientes de edad avanzada y aquellos con comorbilidades o afectación del SNC, en el que las opciones de tratamiento disponibles siguen siendo limitadas. Por ejemplo, las terapias de linfocitos T-CAR existentes están asociadas con toxicidades graves relacionadas con los linfocitos T-CAR, incluyendo el síndrome de liberación de citocinas (SLC) y acontecimientos neurológicos (AN), que pueden limitar la administración a un centro de tratamiento especializado (Estrategia de Evaluación y Mitigación de Riesgos de Yescarta (REMS). Gilead Pharma 10 de septiembre de 2019; Estrategia de mitigación y evaluación de riesgos de Kymriah (REMS) Novartis 10 de septiembre de 2019) y uso de impacto en pacientes difíciles de tratar. Terapias de linfocitos T-CAR con un beneficio/riesgo favorable, específicamente aquellos con alta eficacia y baja incidencia de SLC y AN graves, puede permitir una inclusión más amplia de subgrupos de sujetos y administración/monitoreo ambulatorio.

En divulgaciones particulares, los métodos divulgados dan como resultado resultados favorables en sujetos con LLBG, incluso en ciertos sujetos que han sido previamente excluidos del tratamiento con otras terapias, incluyendo otras terapias de linfocitos T-CAR anti-CD19. El tratamiento con linfocitos T-CAR dirigidos a CD19 en sujetos con LLBG en el grupo de sujetos que se muestra en el presente documento dio como resultado respuestas duraderas, incluidas respuestas asociadas con una mayor expansión de lo linfocitos T-CAR in vivo, y los linfocitos T-CAR persistieron a largo plazo después de la infusión. En algunas divulgaciones, los métodos divulgados demostraron resultados favorables en pacientes fuertemente tratados previamente con enfermedad agresiva, de alto riesgo, incluidos pacientes que eran resistentes a quimioterapia o que requerían tratamiento inmediato para el control de la enfermedad con terapia de transición. Las observaciones en el presente documento apoyan el tratamiento de sujetos con enfermedad agresiva, de alto riesgo con una terapia de linfocitos T-CAR dirigidos a CD 19 de acuerdo con los métodos divulgados. Por ejemplo, sujetos con LLBMP, LDLBG transformado a partir de un linfoma indolente distinto de LF, LF3B, y pacientes con ciertas características de alto riesgo, como el linfoma secundario del SNC, comorbilidades renales/cardíacas moderadas y la necesidad de terapia de transición pueden tratarse de acuerdo con los métodos divulgados. En algunas divulgaciones, los métodos divulgados se pueden usar para tratar sujetos que han sido tratados previamente en gran medida (por ejemplo, con dos, tres o más terapias anteriores para tratar la enfermedad). Entre los subgrupos que pueden tratarse mediante los métodos divulgados también se encuentran los subgrupos mayores de o igual a 65 años, incluidos aquellos > 75 años. Las observaciones en el presente documento demuestran que TRO y RC, incluyendo respuestas duraderas, se observaron en todos los subgrupos con baja incidencia de SLC y AN graves.

En algunas divulgaciones, menos de la mitad de todos los sujetos tratados mediante los métodos divulgados en el presente documento desarrollan SLC o EN. En algunas divulgaciones, la incidencia de SLC y AN de grado ≥3 es baja (2 % y 10 %, respectivamente), y no se produjo ningún SLC o AN fatal en el grupo de sujetos tratados como se describe en los Ejemplos. En algunas divulgaciones, la baja incidencia global y la gravedad de SLC y AN, junto con su aparición tardía (mediana, 5 y 9 días, respectivamente), apoyan la administración/monitoreo ambulatorio en sujetos seleccionados. En algunas divulgaciones, los resultados de seguridad y eficacia en sujetos que reciben composiciones de linfocitos T-CAR en el ámbito ambulatorio son similares a los de toda la población tratada. En algunas divulgaciones, la terapia de linfocitos T con receptor de antígeno quimérico (CAR) generalmente se ha limitado al tratamiento hospitalario en centros médicos universitarios; sin embargo, la mayoría de los pacientes en los EE.UU. con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) recurrente/resistente a tratamiento (R/R) reciben terapia en centros médicos no universitarios donde la administración ambulatoria de terapia contra el cáncer es común. En algunas divulgaciones de cualquiera de los métodos divulgados en el presente documento, la infusión y el manejo de las terapias de linfocitos T-CAR en el ámbito ambulatorio conducen a una utilización más amplia en centros comunitarios/no universitarios y a un mejor acceso.

En algunas divulgaciones, el tratamiento con cualquiera de los métodos divulgados en el presente documento da como resultado una alta tasa de RC duradera y una baja incidencia de SLC y AN graves entre sujetos con LLBG recurrente/resistente a tratamiento agresivo de alto riesgo en este estudio. En algunas divulgaciones, se observa actividad clínicamente significativa en subgrupos de sujetos con necesidades médicas no cubiertas, incluidos subtipos histológicos de LLBG poco comunes y aquellos con características de mal pronóstico. En algunas divulgaciones, la baja incidencia de SLC y AN graves y el tiempo de aparición más tardío permiten la administración/monitoreo ambulatorio. En algunas divulgaciones, el perfil único de riesgo/beneficio de cualquiera de los métodos divulgados en el presente documento puede permitir una mayor inclusión de pacientes y posibles sitios de atención.

En algunas divulgaciones, los métodos implican tratar a un sujeto que tiene un Estado de Desempeño del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de 0-1 o 0-2. En algunas divulgaciones, los métodos tratan a una población de pacientes con LDLBG de mal pronóstico o a un sujeto de la misma que generalmente responde mal a terapias o terapias de referencia particulares, como uno que tiene una o más, tal como dos o tres, translocaciones cromosómicas (como el llamado linfoma de "doble impacto" o "triple impacto"; que tiene translocaciones de loci MYC/8q24, generalmente en combinación con el gen t(14; 18 (q32; q21) bcl-2 o/y translocación cromosómica de BCL6/3q27; véanse, por ejemplo, Xu et al. (2013) Int J Clin Exp Pathol. 6(4): 788-794), y/o que haya recaído, tal como recaída en el intervalo de 12 meses, después de la administración de un trasplante de células madre autólogo (TCMAA) y/o uno que se haya considerado resistente a la quimioterapia.

En algunos casos que se divulgan en el presente documento, las divulgaciones se basan en observaciones de que los métodos que se divulgan pueden usarse para conseguir una tasa de respuesta alta con durabilidad alta, en comparación con determinados métodos disponibles para la terapia celular, sin un riesgo aumentado de toxicidad. En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan permiten una persistencia prolongada de células transferidas adoptivamente para terapia celular y/o una tasa baja de desarrollo de toxicidad en el sujeto. En algunas divulgaciones, los métodos pueden usarse para seleccionar sujetos para el tratamiento con terapia celular que es probable o más probable que respondan a la terapia y/o para determinar las dosis o la pauta posológica adecuadas para una tasa de respuesta más alta y/o una respuesta más duradera, minimizando al mismo tiempo el riesgo de toxicidad. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, las divulgaciones se basan en observaciones de que sujetos que exhiben una respuesta mejorada, como una respuesta completa (RC), exhibieron patrones de expresión génica que se asociaron con patrones de expresión génica que eran más similares a los del

linfoma folicular (LF) en comparación con el linfoma difuso de células B grandes (LDLBG). Las divulgaciones y métodos divulgados pueden informar de estrategias racionales para facilitar la aplicación clínica segura y eficaz de la terapia celular adoptiva, tal como la terapia de linfocitos T-CAR.

En algunas divulgaciones, el sujeto tiene un linfoma no elegible para trasplante (TNE), por ejemplo, el sujeto no es elegible para una quimioterapia de dosis alta ni para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene un LNH de linfocitos B grandes agresivo recurrente/resistente a tratamiento (R/R) TNE. En algunas divulgaciones, los sujetos con LNH agresivo de linfocitos B grandes R/R que han fracasado en la terapia de primera línea con inmunoquimioterapia y no son elegibles para quimioterapia en dosis altas ni trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) tienen un mal pronóstico. En algunas divulgaciones, las opciones de tratamiento disponibles para estos sujetos incluyen regímenes basados en platino/gemcitabina o basadosen bendamustina en combinación con rituximab, con o sin radioterapia. Sin embargo, en algunas divulgaciones, los resultados a largo plazo de las terapias disponibles siguen siendo deficientes debido a la falta de una opción curativa. Los métodos divulgados ofrecen un tratamiento mejorado para tales sujetos.

En algunos casos que se divulgan en el presente documento, las divulgaciones ofrecen una ventaja de mejoras en la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) según lo informado por los sujetos que reciben la terapia de linfocitos T que expresan CAR divulgada. En algunas divulgaciones, al inicio del tratamiento, por ejemplo, en el intervalo 1 mes de administración, el sujeto aún puede estar recuperándose de la administración y de los acontecimientos adversos (por ejemplo, toxicidades) relacionados con la administración de la terapia celular. Se ha observado que los métodos y usos de la terapia celular divulgados dan como resultado una mejora notable en la CVRS informada por los pacientes, particularmente a largo plazo (por ejemplo, a los 12 meses o después de la administración de la terapia celular). Los métodos divulgados ofrecen un resultado de tratamiento mejorado, incluida una mejora de la CVRS, para diversos sujetos.

En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno (por ejemplo, CAR) se une específicamente a un antígeno diana asociado a la enfermedad o afección, tal como asociado a una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B grandes o un LNH. En algunas divulgaciones, el antígeno asociado a la enfermedad o trastorno se selecciona de CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Igkappa, Iglambda, CD79a, CD79b o CD30. En algunas divulgaciones, el antígeno asociado a la enfermedad o trastorno, tal como una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B grandes, es CD 19.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad para su uso en un método de reducción de la toxicidad después de la administración de una terapia celular, en donde el método comprende (a) evaluar uno o más parámetros en un sujeto, en donde el uno o más parámetros se seleccionan del nivel, cantidad o concentración de ferritina o proteína C reactiva (PCR) en una muestra biológica del sujeto; en donde el sujeto es un candidato para el tratamiento con una terapia celular, comprendiendo dicha terapia celular una dosis de células modificadas genéticamente que expresan un receptor recombinante; y en donde la evaluación se realiza antes de administrar la terapia celular y/o dicha muestra biológica o tumor no comprende el receptor recombinante y/o dichas células modificadas por ingeniería genética; (b) identificar si el sujeto tiene riesgo de toxicidad, en donde el sujeto tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está por encima de un nivel umbral y el sujeto no tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está en o por debajo de un nivel umbral, (c) siguiendo o basándose en los resultados de la evaluación, administrar al sujeto la terapia celular.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen una terapia celular para su uso en un método de tratamiento, en donde el método comprende administrar a un sujeto la terapia celular, en donde dicho sujeto se ha identificado que tiene riesgo de desarrollar una toxicidad, en donde identificar al sujeto comprende: (a) evaluar uno o más parámetros en un sujeto, en donde el uno o más parámetros se selecciona del nivel, cantidad o concentración de LDH, ferritina o proteína C reactiva (PCR) en una muestra biológica del sujeto, de un tumor en el sujeto; en donde el sujeto es un candidato para el tratamiento con una terapia celular, comprendiendo dicha terapia celular una dosis de células modificadas genéticamente que expresan un receptor recombinante; y en donde la evaluación se realiza antes de administrar la terapia celular y/o dicha muestra biológica o tumor no comprende el receptor recombinante y/o dichas células modificadas por ingeniería genética; y (b) identificar si el sujeto tiene riesgo de toxicidad, en donde el sujeto tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está por encima de un nivel umbral y el sujeto no tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está en o por debajo de un nivel umbral, en donde: (i) el parámetro es ferritina y el nivel umbral está por encima de exactamente o aproximadamente 1000 nanogramos por mililitro, 2000 nanogramos por mililitro, 3000 nanogramos por mililitro, 4000 nanogramos por mililitro, 5000 nanogramos por mililitro, 6000 nanogramos por mililitro, 7000 nanogramos por mililitro u 8000 nanogramos por mililitro; y/o (ii) el parámetro es PCR y el nivel umbral está por encima de exactamente o preferentemente 5 miligramos por litro, 10 miligramos por litro, 15 miligramos por litro, 20 miligramos por litro, 25 miligramos por litro, 30 miligramos por litro, 40 miligramos por litro o 50 miligramos por litro; y en donde (c) siguiendo o basándose en los resultados de la evaluación, administrar al sujeto la terapia celular y, opcionalmente, un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad.

Un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o el riesgo de

desarrollo de una toxicidad para su uso en un método de tratamiento, en donde el método comprende administrar a un sujeto el agente u otro tratamiento, en donde dicho sujeto se ha identificado que tiene riesgo de desarrollar una toxicidad, en donde identificar al sujeto comprende: (a) evaluar uno o más parámetros en un sujeto, en donde el uno o más parámetros se selecciona del nivel, cantidad o concentración de ferritina o proteína C reactiva (PCR) en una muestra biológica del sujeto; en donde el sujeto es un candidato para el tratamiento con una terapia celular, comprendiendo dicha terapia celular una dosis de células modificadas genéticamente que expresan un receptor recombinante; y en donde la evaluación se realiza antes de administrar la terapia celular y/o dicha muestra biológica o tumor no comprende el receptor recombinante y/o dichas células modificadas por ingeniería genética; y (b) identificar si el sujeto tiene riesgo de toxicidad, en donde el sujeto tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está por encima de un nivel umbral y el sujeto no tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está en o por debajo de un nivel umbral, en donde: (i) el parámetro es ferritina y el nivel umbral está por encima de exactamente o aproximadamente 1000 nanogramos por mililitro, 2000 nanogramos por mililitro, 3000 nanogramos por mililitro, 4000 nanogramos por mililitro, 5000 nanogramos por mililitro, 6000 nanogramos por mililitro, 7000 nanogramos por mililitro u 8000 nanogramos por mililitro; y/o (ii) el parámetro es PCR y el nivel umbral está por encima de exactamente o preferentemente 5 miligramos por litro, 10 miligramos por litro, 15 miligramos por litro, 20 miligramos por litro, 25 miligramos por litro, 30 miligramos por litro, 40 miligramos por litro o 50 miligramos por litro; y en donde (c) siguiendo o basándose en los resultados de la evaluación, administrar al sujeto la terapia celular y el agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad.

Un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad para su uso en un método de reducción de la toxicidad después de la administración de una terapia celular, en donde el método comprende: (a) evaluar uno o más parámetros en un sujeto, en donde el uno o más parámetros se selecciona del nivel, cantidad o concentración de ferritina o proteína C reactiva (PCR) en una muestra biológica del sujeto; en donde el sujeto es un candidato para el tratamiento con una terapia celular, comprendiendo dicha terapia celular una dosis de células modificadas genéticamente que expresan un receptor recombinante; y en donde la evaluación se realiza antes de administrar la terapia celular y/o dicha muestra biológica o tumor no comprende el receptor recombinante y/o dichas células modificadas por ingeniería genética; y (b) identificar si el sujeto tiene riesgo de toxicidad, en donde el sujeto tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está por encima de un nivel umbral y el sujeto no tiene riesgo de toxicidad si uno o más parámetros está en o por debajo de un nivel umbral, en donde: (i) el parámetro es ferritina y el nivel umbral está por encima de exactamente o aproximadamente 1000 nanogramos por mililitro, 2000 nanogramos por mililitro, 3000 nanogramos por mililitro, 4000 nanogramos por mililitro, 5000 nanogramos por mililitro, 6000 nanogramos por mililitro, 7000 nanogramos por mililitro u 8000 nanogramos por mililitro; y/o (ii) el parámetro es PCR y el nivel umbral está por encima de exactamente o preferentemente 5 miligramos por litro, 10 miligramos por litro, 15 miligramos por litro, 20 miligramos por litro, 25 miligramos por litro, 30 miligramos por litro, 40 miligramos por litro o 50 miligramos por litro; y en donde (c) siguiendo o basándose en los resultados de la evaluación, administrar al sujeto la terapia celular y el agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen la administración de las células o una composición que contiene las células a un sujeto, tejido o célula, tal como uno que tiene, está en riesgo o se sospecha que tiene la enfermedad, afección o trastorno. En algunas divulgaciones, el sujeto es el sujeto es un adulto. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene más de exactamente o aproximadamente 30, 40, 50, 60 o 70 años de edad.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen la administración de células a un sujeto seleccionado o identificado como que tiene un determinado pronóstico o riesgo de una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B grandes (por ejemplo, LDLBG). En algunas divulgaciones, los métodos incluyen la administración de células a un sujeto seleccionado o identificado como que tiene un linfoma no Hodgkin (LNH). Los linfomas, tal como el linfoma no Hodgkin (LNH) o los linfomas de linfocitos B grandes pueden ser una enfermedad variable. Algunos sujetos con LNH pueden sobrevivir sin tratamiento, mientras que otros pueden requerir una intervención inmediata. En algunos casos, los sujetos con LNH pueden clasificarse en grupos que pueden informar del pronóstico de la enfermedad y/o la estrategia de tratamiento recomendada. En algunos casos, estos grupos pueden ser de "riesgo bajo", "riesgo intermedio", "riesgo alto", y/o "riesgo muy alto" y los pacientes pueden clasificarse de esta manera dependiendo de una serie de factores que incluyen, pero sin limitación, anomalías genéticas y/o características morfológicas o físicas. En algunas divulgaciones, los sujetos tratados de acuerdo con los métodos, y/o con los artículos de fabricación o composiciones, se clasifican o identifican basándose en el riesgo de LNH. En algunas divulgaciones, el sujeto es uno que tiene LNH de riesgo alto.

En algunas divulgaciones, el sujeto ha sido tratado anteriormente con una terapia o un agente terapéutico dirigido a la enfermedad o afección, por ejemplo, un linfoma de linfocitos B grandes o un LNH, antes de la administración de las células que expresan el receptor recombinante. En algunas divulgaciones, el sujeto ha sido tratado anteriormente con un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), por ejemplo, un TCMH alogénico o un TCMH autólogo. En algunas divulgaciones, el sujeto ha tenido un mal pronóstico después del tratamiento con una terapia convencional y/o ha fracasado con una o más líneas de terapia anterior. En algunas divulgaciones, el sujeto se ha tratado o ha recibido previamente al menos o al menos aproximadamente o aproximadamente 1, 2, 3 o 4 terapias adicionales para tratar la enfermedad o el trastorno, tal como un linfoma de linfocitos B grandes o LNH, distintas de una terapia con reducción de linfocitos y/o la dosis de células que expresan el receptor de antígeno. En algunas

divulgaciones, el sujeto se ha tratado o ha recibido previamente una terapia que incluye antraciclina, un agente dirigido a CD20 y/o ibrutinib.

En algunas divulgaciones, el sujeto ha sido tratado anteriormente con quimioterapia o radioterapia. En algunas divulgaciones, el sujeto es refractario o no responde a la otra terapia o agente terapéutico. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene una enfermedad persistente o recurrente, por ejemplo, después del tratamiento con otra terapia o intervención terapéutica, incluyendo quimioterapia o radiación.

En algunas divulgaciones, el sujeto es uno que es elegible para un trasplante, tal como elegible para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), p. ej., un TCMH alogénico. En algunas divulgaciones, el sujeto es uno que es elegible para un trasplante, tal como elegible para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), p. ej., TCMH autólogo. En algunas de dichas divulgaciones, el sujeto no ha recibido anteriormente un trasplante, a pesar de ser elegible, antes de la administración de las células modificadas por ingeniería genética (por ejemplo, linfocitos T-CAR) o una composición que contiene las células al sujeto como se divulga en el presente documento.

En algunas divulgaciones, el sujeto es uno que no es elegible para un trasplante (también conocido como no elegible para trasplante, TNE), tal como no elegible para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), p. ej., un TCMH alogénico. En algunas divulgaciones, a un sujeto de este tipo se le administran las células modificadas por ingeniería genética (por ejemplo, linfocitos T-CAR) o una composición que contiene las células de acuerdo con los casos que se divulgan en el presente documento.

En algunas divulgaciones, el sujeto es uno que no es elegible para un trasplante de células madre hematopoyéticas porque el sujeto cumplió al menos uno de los siguientes criterios: ≥70 años de edad, ECOG PS de 2 y/o función pulmonar (DPCO ≤60 %, pero SaO_2≥92 % con aire ambiente y CTCAE ≤1 disnea), cardiaca (FEVI ≥40 % y <50 %), renal (aclaramiento de creatinina >30 y <60 ml/min) o hepática (AST/ALT >2 y ≤5 × LSN) deterioradas.

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado como no elegible para una quimioterapia de dosis alta. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado como no elegible para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH). En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH).

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto tiene un LNH recurrente/resistente a tratamiento, y exactamente o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), y el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una terapia anterior para la enfermedad o afección distinta de otra dosis de células que expresan el CAR.

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado como de 70 años o mayor. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, y/o el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional de ECOG de 2. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función pulmonar deteriorada, opcionalmente con una capacidad de difusión de los pulmones para monóxido de carbono (DLCO) del o aproximadamente el 60 % o menos. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función cardíaca deteriorada, opcionalmente con una fracción de expulsión del ventrículo izquierdo (FEVI) inferior o aproximadamente al 50 %. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función renal deteriorada, opcionalmente con un aclaramiento de creatinina calculado inferior a o aproximadamente 60 ml/min. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función hepática deteriorada, opcionalmente con una aspartato aminotransferasa (AST) y una alanina aminotransferasa (ALT) de más del o aproximadamente el doble del límite superior de la normalidad (LSN).

En algunas divulgaciones, el sujeto tiene un linfoma que está asociado a o implica afectación del sistema nervioso central (SNC), y el sujeto se ha tratado previamente con un anticonvulsivo, tal como levetiracetam.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen la administración de células a un sujeto seleccionado o identificado como que tiene un linfoma de linfocitos B grandes de riesgo alto o un LNH de riesgo alto. En algunas divulgaciones, el sujeto presenta una o más anomalías citogenéticas, tal como asociadas a una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B de riesgo alto o un LNH de riesgo alto. En algunas divulgaciones, el sujeto se selecciona o se identifica basándose en que tiene una enfermedad o afección caracterizada o determinada como LNH agresivo, linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP), linfoma de linfocitos B grandes ricos en histocitos/linfocitos T (LLBGRHLT), linfoma de Burkitt (LB), linfoma de células del manto (LCM) y/o linfoma folicular (LF). En divulgaciones particulares, el sujeto a tratar

utilizando los métodos divulgados en el presente documento incluye sujetos con un linfoma de linfocitos B grandes agresivo o un LNH agresivo, en particular, con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), no especificado de otra manera (NOS; de novo o transformado de indolente), linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) o linfoma folicular grado 3B (LF3B). En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto tiene linfoma folicular (LF). En divulgaciones particulares, el sujeto que se va a tratar utilizando los métodos divulgados en el presente documento incluye sujetos con LDLBG que se transforma a partir de un linfoma folicular (LF) u otro linfoma indolente. En divulgaciones particulares, el sujeto que se va a tratar utilizando los métodos divulgados en el presente documento incluye sujetos con LDLBG que se transforma a partir de una histología indolente (LDLBGt). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene LDLBG transformado a partir de linfoma de zona marginal (LZM) o leucemia linfocítica crónica (LLC) (por ejemplo, de Richter). En algunas divulgaciones, un sujeto con transformación de LLC puede presentar el síndrome de Richter (SR), definido como la transformación de la LLC en un linfoma agresivo, lo más comúnmente linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) (véase, por ejemplo, Parikh et al. Blood 2014 123:1647-1657).

En algunas divulgaciones, el sujeto tiene linfoma de células del manto (LCM). En algunas divulgaciones, el LCM se caracteriza por la translocación cromosómica t(11:14)(q13;132) (Vose JM, et al. Am J Hematol. 2017.; 92:806-813). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene factores de riesgo deficientes, incluidas mutaciones de TP53 y/o un índice de proliferación alto (Ki67>30 %). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene factores de riesgo deficientes, incluida la afectación previa de la médula ósea, derrames pleurales previos y/o enfermedad del SNC. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene factores de riesgo deficientes, incluidas variantes de LCM. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene una variante blastoide de LCM. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene una variante polimorfa de LCM. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene linfoma de células del manto (LCM) que ha fracasado (recurrente/resistente a tratamiento, R/R) después de ≥ 1 línea de terapia anterior. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene linfoma de células del manto (LCM) que ha fracasado (recurrente/resistente a tratamiento, R/R) después de 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 líneas de terapia anteriores. En algunas divulgaciones, el sujeto ha recibido anteriormente ibrutinib y/o venetoclax. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene LCM que ha recaído después de recibir ibrutinib y/o venetoclax. En algunas divulgaciones, el sujeto había recibido 1 o más líneas de inmunoquimioterapia anteriores que contenían una antraciclina y un agente dirigido a CD20 (p. ej., R-CHOP). En algunas divulgaciones, el sujeto había recibido terapia de células madre hematopoyéticas (TCMH) anterior, por ejemplo, un TCMH alogénico o un TCMH autólogo. En algunas divulgaciones, el sujeto ha confirmado LCM que expresa ciclina D1 con enfermedad R/R.

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se trata o se ha tratado con una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el uno o más agentes dirigidos a CD20 comprenden rituximab. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el uno o más agentes dirigidos a CD20 comprenden R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina clorhidrato (hidroxidaunomicina), sulfato de vincristina (oncovin) y prednisona).

En algunas divulgaciones, el sujeto tiene un estado funcional deficiente. En algunas divulgaciones, la población que ha de tratarse incluye sujetos que tienen un Estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) que está en cualquier lugar entre 0-2. En otras divulgaciones, los sujetos a tratar incluyeron ECOG 0-1 o no incluyen sujetos ECOG 2. En algunas divulgaciones, los sujetos que se han de tratar han fracasado en dos o más terapias anteriores. En algunas divulgaciones, el sujeto no tiene LDLBG transformado a partir de linfoma de zona marginal (LZM) o leucemia linfocítica crónica (LLC) (por ejemplo, de Richter). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene características que se correlacionan con una mala supervivencia global. En algunas divulgaciones, el sujeto nunca ha conseguido una respuesta completa (CR), nunca recibió un trasplante de células madre autólogo (TCMA), es resistente a tratamiento a 1 o más terapias de segunda línea, tiene una enfermedad primaria resistente a tratamiento y/o tiene una puntuación de rendimiento del ECOG de 2 o una puntuación ECOG de entre 0 y 1. En algunas divulgaciones, y/o el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional de ECOG de 0 o 1.

En algunas divulgaciones, el sujeto a tratar incluye un grupo de sujetos con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), de novo o transformado a partir de linfoma indolente (no especificado de otra manera, NOS), linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBMP) y linfoma folicular grado 3b (LF3B) después del fracaso de 2 líneas de terapia y puntuación ECOG de 0-2, y el sujeto puede, opcionalmente, haber sido tratado previamente con un trasplante de células madre (TCM) alogénico. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto que va a tratarse tiene linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, dicho grupo de sujetos puede denominarse "cohorte completa". En algunas divulgaciones, el sujeto se selecciona para el tratamiento con terapia celular adoptiva, si el sujeto cumple dichos criterios. En algunas divulgaciones, dentro de dicho grupo ("cohorte completa"), el sujeto no se selecciona para el tratamiento o se excluye del tratamiento, si el sujeto tiene un estado funcional deficiente (por ejemplo, ECOG 2) y/o tiene LDLBG transformado a partir de linfomas de zona marginal (LZM) o leucemia linfocítica crónica (LLC, de Richter). Por lo tanto, en algunas divulgaciones, el sujeto se selecciona para el tratamiento si el sujeto tiene linfoma difuso de células B grandes (LDLBG), de novo o transformado a partir de linfoma indolente (NOS), linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBMP) y linfoma folicular grado 3b (LF3B) después del fracaso de 2 líneas de terapia y puntuación ECOG de 0 o 1, y el sujeto puede, opcionalmente, haber sido tratado previamente con un trasplante de células madre (TCM) alogénico, pero no tiene LDLBG transformado a partir de linfomas de zona marginal (LZM) o leucemia linfocítica crónica (LLC, de Richter). En algunas divulgaciones, el sujeto

se selecciona para el tratamiento si el sujeto tiene linfoma folicular (LF).

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un linfoma de doble/triple impacto. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un linfoma resistente a quimioterapia, opcionalmente un LDLBG resistente a quimioterapia. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto no ha conseguido la remisión completa (RC) en respuesta a una terapia anterior. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el sujeto ha recaído en el intervalo de 1 año o menos de 1 año después de recibir un trasplante de células madre autólogo (TCMA).

En algunas divulgaciones, dicho grupo de sujetos puede denominarse "cohorte central". En algunas divulgaciones, el sujeto que va a tratarse son los sujetos de la "cohorte central". En algunos casos que se divulgan en el presente documento, las divulgaciones se basan en observaciones de que determinada población de sujetos, por ejemplo, los sujetos de la "cohorte central" a quienes se les ha administrado una determinada dosis de la terapia celular, muestran una tasa de respuesta global (TRO) de más del 80 %, con una tasa de respuesta completa (RC) de más del 55 %, con alta durabilidad, por ejemplo, la respuesta que se mantiene durante un periodo de tiempo más largo, por ejemplo, más de 3 meses, con una TRO a los 3 meses superior al 65 % y una tasa de RC a los 3 meses de aproximadamente el 50 %. En particular, las observaciones divulgadas indicaron que la TRO a los 3 meses era alta en sujetos con dos o tres translocaciones cromosómicas (linfoma de "doble impacto" o "triple impacto"; que tiene translocaciones de loci MYC/8q24, generalmente en combinación con el gen t(14; 18 (q32; q21) bcl-2 o/y translocación cromosómica de BCL6/3q27; véanse, por ejemplo, Xu et al. (2013) Int J Clin Exp Pathol. 6(4): 788-794), linfomas primarios resistentes a tratamiento, LDLBG resistente a quimioterapia y sujetos que nunca antes habían conseguido RC.

En algunos casos se divulgan en el presente documento composiciones, métodos y usos para la administración de una composición definida de la terapia celular, a dosis particulares, que se asocian a una tasa de respuesta alta y/o a una durabilidad alta de respuesta, y niveles y/o incidencia bajos de toxicidad. En algunas divulgaciones, la composición o dosis administrada es una dosis plana y/o fija, tal como una dosis plana precisa, de células y/o de una o más células que tienen un fenotipo particular, tal como un número particular de dichas células o un número que está dentro de un intervalo particular y/o grado de variabilidad o varianza en comparación con un número objetivo. En algunas divulgaciones, la composición o dosis administrada contiene una relación definida de células $CD4^+$ y $CD8^+$ (por ejemplo, relación 1:1 de linfocitos T CAR^+ $CD4^+$:$CD8^+$) y/o contiene una relación que está dentro de un determinado grado de variabilidad con respecto a dicha relación, tal como no más del 10 %, tal como no más del 8%, tal como un grado de variabilidad o varianza de no más del 10 %, tal como no más del $\pm$ 8 %. En algunas divulgaciones, las células $CD4^+$ y $CD8^+$ se formulan y administran individualmente. En algunas divulgaciones, las células administradas presentan una actividad y/o función uniforme, por ejemplo, la producción de citocinas, la apoptosis y/o la expansión. En algunas divulgaciones, las composiciones divulgadas presentan una actividad altamente uniforme y definida, y una variabilidad baja entre células, por ejemplo, en términos del número de células, la función celular y/o la actividad celular, en la composición o entre preparaciones. En algunas divulgaciones, la uniformidad en la actividad y/o la función, por ejemplo, la variabilidad baja entre preparaciones de composiciones, permite una eficacia y/o una seguridad mejoradas. En algunas divulgaciones, la administración de las composiciones definidas dio como resultado una variabilidad baja del producto y una toxicidad baja, por ejemplo, SLC o neurotoxicidad, en comparación con la administración de composiciones celulares con alta heterogeneidad. En algunas divulgaciones, la composición uniforme y definida también presenta una expansión celular uniforme. Dicha uniformidad puede facilitar la identificación de la dosis, la ventana terapéutica, la evaluación de la respuesta a la dosis y la identificación de factores del sujeto que pueden correlacionarse con resultados de seguridad o toxicidad.

En algunas divulgaciones, en una determinada cohorte de sujetos que reciben una única infusión de un nivel de dosis particular, se puede conseguir una tasa de respuesta duradera después de 6 meses superior al 60 %. En algunas divulgaciones, los sujetos en algunas cohortes pueden conseguir una tasa de respuesta global (ORR, en algunos casos también conocida como tasa de respuesta objetiva) de más del 80 %, una tasa de respuesta completa (RC) de más del 60 % y/o una tasa de RC duradera alta a los 6 meses. En algunas divulgaciones, los sujetos que reciben una dosis definida muestran resultados de seguridad mejorados, por ejemplo, más de dos tercios de los sujetos que no presentan ningún SLC o NT. En algunas divulgaciones, la tasa de SLC grave o NT grave es baja. En algunas divulgaciones, una mayor exposición (p. ej., $C_{máx}$ y las ABC_{0-28}) observada con una dosis particular definida, no se asocia con una mayor toxicidad, por ejemplo, SLC o NT. En algunas divulgaciones, pueden usarse factores particulares del sujeto, por ejemplo, determinados biomarcadores, se pueden utilizar para predecir el riesgo de toxicidad. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, las divulgaciones pueden usarse para conseguir una tasa de respuesta alta con riesgo bajo de toxicidad.

En algunas divulgaciones, no más del 25 %, no más del 20 %, no más del 15 %, no más del 10 % o no más del 5 % de los sujetos tratados usando las composiciones, artículos de fabricación, kits, métodos y usos que se divulgan, reciben un agente (por ejemplo, tocilizumab y/o dexametasona) para mejorar, tratar o prevenir una toxicidad, ya sea antes o después de la administración de la terapia celular. En algunas divulgaciones, al sujeto no se le administra ningún tratamiento de profilaxis antes de recibir las células modificadas por ingeniería genética (por ejemplo, linfocitos T-CAR).

En algunos casos que se divulgan en el presente documento, las divulgaciones proporcionan una ventaja, por ejemplo, permiten la administración de la terapia celular de forma ambulatoria. La terapia con linfocitos T-CAR generalmente se ha administrado en entornos hospitalarios, como en los centros médicos universitarios. Sin embargo, muchos sujetos con linfoma difuso de linfocitos B grandes R/R reciben terapia en centros médicos donde se lleva a cabo la terapia contra el cáncer de forma ambulatoria. En algunas divulgaciones, la infusión y el manejo de las terapias de linfocitos T-CAR en el entorno ambulatorio pueden mejorar el acceso a dichas terapias, incluida una utilización más amplia del tratamiento ambulatorio en centros comunitarios/no universitarios. En algunas divulgaciones, la administración de la dosis de células y/o la terapia con reducción de linfocitos se realiza en un centro de asistencia no terciaria. En algunas divulgaciones, la administración de la terapia celular, por ejemplo, dosis de linfocitos T de acuerdo con las divulgaciones, puede realizarse de forma ambulatoria o no requiere la admisión del sujeto en el hospital, tal como la admisión en el hospital que requiere una estancia de una noche. En algunas divulgaciones, dicha administración ambulatoria puede permitir un acceso mayor y costes menores, manteniendo una tasa de respuesta duradera alta con baja toxicidad. En algunas divulgaciones, el tratamiento ambulatorio puede ser ventajoso para pacientes que ya están inmunocomprometidos por tratamientos anteriores, por ejemplo, después de la reducción de linfocitos, y tienen un mayor riesgo de exposición en una estancia hospitalaria o en un entorno hospitalario. En algunas divulgaciones, el tratamiento ambulatorio también aumenta las opciones de tratamiento para sujetos que pueden no tener acceso a centros hospitalarios, entornos hospitalarios o centros de trasplantes, ampliando de este modo el acceso al tratamiento. En algunas divulgaciones, después de la administración de una dosis de las células, el sujeto se monitorea en un entorno ambulatorio, opcionalmente mediante contacto telefónico y/o una visita de un profesional sanitario.

En algunas divulgaciones, los sujetos tratados de forma ambulatoria utilizando las composiciones, artículos de fabricación, kits, métodos y usos divulgados permanecen en régimen ambulatorio durante al menos 3 días o un determinado porcentaje de sujetos, por ejemplo al menos 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 % o al menos el 95 %, de los sujetos tratados de esta manera permanecen en régimen ambulatorio durante al menos 3 días. En algunas divulgaciones, los sujetos permanecen en régimen ambulatorio durante al menos 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días o más. En algunas divulgaciones, los sujetos tratados que utilizan las composiciones, artículos de fabricación, kits, métodos y usos divulgados muestran una reducción en la duración de la estancia hospitalaria, por ejemplo, de al menos el 10 %, al menos el 15 %, al menos el 20 %, al menos el 25 %, al menos el 30 %, al menos el 35 % o al menos el 40 %, en comparación con los sujetos tratados mediante otras composiciones, artículos de fabricación, kits, métodos y usos.

En algunas divulgaciones, los métodos, las células y las composiciones pueden proporcionar una alta tasa de respuesta duradera a sujetos en una variedad de características del paciente y/o carga tumoral. En algunas divulgaciones, los métodos, las células y las composiciones pueden proporcionar una alta tasa de respuesta duradera a pacientes de riesgo alto con mal pronóstico, con un riesgo reducido de acontecimientos adversos o toxicidades. En algunas divulgaciones, los métodos y usos proporcionan o consiguen una tasa de respuesta más alta y/o respuestas o una eficacia más duraderas y/o un riesgo reducido de toxicidad u otros efectos secundarios que pueden asociarse a la terapia celular, tales como neurotoxicidad (NT) o síndrome de liberación de citocinas (SLC). En algunas divulgaciones, las observaciones que se divulgan indicaron una tasa baja de NT grave (NTg) o SLC grave (SLCg), y una tasa alta de pacientes sin ninguna toxicidad, por ejemplo, NT o SLC.

En algunas divulgaciones, al menos el 35 %, al menos el 40 %, al menos el 50 %, al menos el 55 %, al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 % o al menos el 75 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, consiguen una respuesta completa (CR). En algunas divulgaciones, al menos el 50 %, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 % o al menos el 90 % de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, consiguen una respuesta objetiva (RO). En algunas divulgaciones, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, consiguen una RC o una RO en un mes, en dos meses o en 3 meses.

En algunas divulgaciones, en 3 meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses o más después del inicio de la administración de la terapia celular, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, permanecen en respuesta, tal como permanecen en RC o RO. En algunas divulgaciones, dicha respuesta, tal como RC o RO, es duradera durante al menos 3 meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses o 9 meses, tal como en al menos o al menos aproximadamente el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos divulgados o en dichos sujetos que consiguen una RC en un mes o en 3 meses. En algunas divulgaciones, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 %, al menos el 95 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos divulgados, y/o con los artículos de fabricación o composiciones divulgados, o tales sujetos que consiguen una RC en un mes o en 3 meses, sobreviven o sobreviven sin progresión durante más o más de aproximadamente 3 meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses o 9 meses.

En algunas divulgaciones, la respuesta resultante observada en dichos sujetos mediante el tratamiento de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, se asocia a o da como resultado un riesgo bajo de cualquier toxicidad o un riesgo bajo de toxicidad grave en la mayoría de los sujetos tratados. En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 30 %, 35 %, 40 %, 50 %, 55 %, 60 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan no presentan ningún grado de SLC o ningún grado de neurotoxicidad (NT). En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan no presentan SLC grave o SLC de grado 3 o superior. En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 50 %, 60 %, 70 %, 80 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, no presentan neurotoxicidad grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior, tal como neurotoxicidad de grado 4 o 5.

En algunas divulgaciones, al menos exactamente o aproximadamente el 45 %, 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan no presentan SLC o neurotoxicidad de aparición precoz y/o no presentan una aparición de SLC antes de 1 día, 2 días, 3 días o 4 días después del inicio de la administración. En algunas divulgaciones, al menos exactamente o aproximadamente el 45 %, 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95 % de sujetos tratados de acuerdo con los métodos y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, no presentan una aparición de neurotoxicidad antes de 3 días, 4 días, 5 días, seis días o 7 días después del inicio de la administración. En algunas divulgaciones, la mediana de aparición de neurotoxicidad entre sujetos tratados de acuerdo con los métodos y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, está en o después de la mediana del pico de, o la mediana del tiempo hasta la resolución de, SLC en sujetos tratados de acuerdo con el método. En algunos casos, la mediana de aparición de neurotoxicidad entre sujetos tratados de acuerdo con el método es superior a exactamente o aproximadamente 8, 9, 10 u 11 días.

En algunas divulgaciones, dichos resultados se observan después de la administración de o de aproximadamente 5×10^7 a o a aproximadamente $1,5 \times 10^8$, tal como de o de aproximadamente 5×10^7 a o a aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes totales (por ejemplo, linfocitos T CAR+), tal como una dosis de linfocitos T que incluyen linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ administrados en una relación definida como se describe en el presente documento, por ejemplo, en exactamente o aproximadamente una relación 1:1, y/o en un número preciso o plano o fijo de linfocitos T CAR^+, o un número preciso o plano o fijo de un tipo particular de linfocitos T CAR^+ tales como linfocitos T CAR^+ $CD4^+$ y/o linfocitos T CAR^+ $CD8^+$, y/o un número de cualquiera de dichas células que está dentro de un grado de varianza especificado, tal como no más de, + o - (más o menos, en algunos casos indicado como ±), el 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 % en comparación con dicho número preciso o plano o fijo. En algunas divulgaciones, dicho número plano o fijo de células es de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$, 5×10^7, 10×10^7, 15×10^7 o 20×10^7, por ejemplo, de linfocitos T CAR^+ totales o de linfocitos T CAR^+ $CD8^+$ y/o $CD4^+$. En algunas divulgaciones, el número de células en la dosis incluye o consiste en o consiste esencialmente en 5×10^7 linfocitos T CAR^+CD4^+ (en algunos casos $2,5 \times 10^7$ linfocitos T CAR^+CD4^+ y $2,5 \times 10^7$ linfocitos T CAR^+CD8^+); en algunas divulgaciones, incluye o consiste en o consiste esencialmente en 10×10^7 linfocitos T CAR^+ (en algunos casos 5×10^7 linfocitos T CAR^+CD4^+ y 5×10^7 linfocitos T CAR^+CD8^+). En algunas divulgaciones, el número de células administradas está dentro de un determinado grado de varianza de dichos números en las divulgaciones mencionadas anteriormente, tal como dentro de más o menos (±) el 5, 6, 7, 8, 9 o 10 %, tal como dentro de más o menos el 8 %, en comparación con dicho número o números de células. En algunas divulgaciones, la dosis está dentro de un intervalo en el que se observa una correlación (opcionalmente una relación lineal) entre el número de dichas células (por ejemplo, de linfocitos T CAR^+ totales o de linfocitos T CAR^+ $CD8^+$ y/o $CD4^+$) y uno o más resultados indicativos de respuesta terapéutica, o duración de la misma (por ejemplo, probabilidad de conseguir una remisión, una remisión completa y/o una duración particular de la remisión) y/o duración de cualquiera de los anteriores. En algunas divulgaciones, se encuentra que la dosis más alta de células administrada puede dar como resultado una mayor respuesta sin repercutir o afectar a, o sin repercutir o afectar sustancialmente a la incidencia o riesgo de toxicidad (por ejemplo, SLC o neurotoxicidad), o el grado de incidencia o riesgo de toxicidad, en el sujeto, por ejemplo, SLC grave o neurotoxicidad grave.

En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan pueden conseguir una tasa de respuesta alta o particular (tal como una tasa de respuesta entre una población evaluada después de un determinado período posterior a la administración, tal como 3 meses o seis meses), por ejemplo, una TRO (tal como una TRO a los 6 meses o a los 3 meses) del 40 % o más, el 45 % o más, el 50 % o más, el 55 % o más, el 60 % o más, el 65 % o más, el 70 % o más, el 75 % o el 80 % o el 81 %, 82 %, 83 %, 84 % o el 85 % o más, y una tasa de RC (tal como una tasa de RC a los 6 meses o a los 3 meses) del 30 % o más, el 35 % o más, el 40 % o más, el 45 % o más, el 50 % o más, el 55 % o más, el 60 % o más, el 65 % o más, el 70 % o más, 71 %, 72 %, 73 % o más o aproximadamente el 75 % o más, que también sea duradera, tal como durante un período de tiempo particular o al menos un período de tiempo particular, por ejemplo, se mantiene durante más de 1, 3 o 6 meses o más o 9 meses o más después del inicio de la terapia. En algunas divulgaciones, dichas tasas de respuesta y durabilidad se reciben después de sólo una única administración o dosis de dicha terapia. El tratamiento de dichos sujetos mediante los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, en algunas divulgaciones, también da como

resultado que los sujetos consiguen la tasa alta de respuesta, pero sin presentar una incidencia mayor de toxicidades en desarrollo, tales como neurotoxicidad o SLC, incluso a una dosis celular más alta. En algunas divulgaciones, aproximadamente o más del 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos que consiguen tales respuestas no desarrollan ningún grado de toxicidad, tal como ningún grado de SLC y/o neurotoxicidad.

Por lo tanto, en algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan, artículos de fabricación y/o composiciones, pueden ofrecer ventajas sobre otros métodos o soluciones o enfoques disponibles para el tratamiento, tal como para la terapia celular adoptiva. En particular, entre los casos que se divulgan en el presente documento se encuentran aquellos que ofrecen una ventaja para los sujetos con LNH de riesgo alto, consiguiendo una respuesta duradera a una tasa alta, con una incidencia reducida de toxicidades o efectos secundarios.

A. Método de tratamiento

En el presente documento se divulgan métodos de tratamiento que implican la administración de células modificadas por ingeniería genética o composiciones que contienen células modificadas por ingeniería genética, tales como linfocitos T modificados por ingeniería genética. También se divulgan métodos y usos de células modificadas por ingeniería genética (por ejemplo, linfocitos T) y/o composiciones de las mismas, incluyendo métodos para el tratamiento de sujetos que tienen una enfermedad o afección tal como una leucemia o un linfoma o una neoplasia maligna de linfocitos B, por ejemplo, un linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) o un subtipo del mismo, un linfoma de linfocitos B grandes y/o un linfoma no Hodgkin (LNH), que implican la administración de las células modificadas por ingeniería genética y/o composiciones de las mismas. En algunas divulgaciones, los métodos y usos que se divulgan pueden conseguir una respuesta mejorada y/o respuestas o una eficacia más duraderas y/o un riesgo reducido de toxicidad u otros efectos secundarios, por ejemplo, en grupos particulares de sujetos tratados, en comparación con determinados métodos alternativos. En algunas divulgaciones, también se divulgan métodos de administración de células modificadas por ingeniería genética o composiciones que contienen células modificadas por ingeniería genética, tales como linfocitos T modificados por ingeniería genética, a un sujeto, tal como un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno. En algunas divulgaciones, también se divulgan usos de células modificadas por ingeniería genética o composiciones que contienen células modificadas por ingeniería genética, tales como linfocitos T modificados por ingeniería genética para el tratamiento de una enfermedad o trastorno. En algunas divulgaciones, también se divulgan usos de células modificadas por ingeniería genética o composiciones que contienen células modificadas por ingeniería genética, tales como linfocitos T modificados por ingeniería genética para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno. En algunas divulgaciones, también se divulgan métodos de administración de células modificadas por ingeniería genética o composiciones que contienen células modificadas por ingeniería genética, tales como linfocitos T modificados por ingeniería genética, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno, o para la administración a un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno. En algunas divulgaciones, los usos de las células modificadas por ingeniería genética o composiciones que contienen células modificadas por ingeniería genética, tales como linfocitos T modificados por ingeniería genética están de acuerdo con cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento.

También se divulgan métodos de tratamiento que implican seleccionar a un sujeto que tiene una enfermedad o afección, tal como cualquiera enfermedad o afección descritas en el presente documento; y administrar al sujeto una dosis de linfocitos T que comprende linfocitos T que expresan un receptor recombinante que se une específicamente a un antígeno diana expresado por la enfermedad o afección o una célula o tejido de la misma y/o que está asociado a la enfermedad o afección.

Las células modificadas por ingeniería genética que expresan un receptor recombinante, tales como un receptor de antígeno quimérico (CAR), o composiciones que comprenden el mismo son útiles en una variedad de indicaciones terapéuticas, diagnósticas y profilácticas. Por ejemplo, las células modificadas por ingeniería genética o composiciones que comprenden las células modificadas por ingeniería genética son útiles en el tratamiento de una diversidad de enfermedades y trastornos en un sujeto. Dichos métodos y usos incluyen métodos y usos terapéuticos, por ejemplo, que implican la administración de las células modificadas por ingeniería genética, o composiciones que contienen las mismas, a un sujeto que tiene una enfermedad, afección o trastorno, tal como una neoplasia maligna de linfocitos B, por ejemplo, un linfoma de linfocitos B grandes. En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética o composiciones que comprenden las mismas se administran en una cantidad eficaz para efectuar el tratamiento de la enfermedad o trastorno. Los usos incluyen usos de las células modificadas por ingeniería genética o composiciones en dichos métodos y tratamientos, y en la preparación de un medicamento con el fin de realizar dichos métodos terapéuticos. En algunas divulgaciones, los métodos se realizan administrando las células modificadas por ingeniería genética, o composiciones que comprenden las mismas, al sujeto que tiene o se sospecha que tiene la enfermedad o afección. En algunas divulgaciones, los métodos tratan de este modo la enfermedad o afección o trastorno en el sujeto.

Se conocen métodos generales para la administración de células para terapia celular adoptiva y pueden usarse en relación con los métodos y composiciones que se divulgan. Por ejemplo, se describen métodos de terapia adoptiva de linfocitos T, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente de los EE.UU. n.º 2003/0170238 de Gruenberg *et al.*; la patente de los EE.UU. n.º 4.690.915 de Rosenberg; Rosenberg (2011) *Nat Rev Clin Oncol.* 8(10):577-85).

Véase, por ejemplo, Themeli *et al*. (2013) *Nat Biotechnol*. 31(10): 928-933; Tsukahara *et al*. (2013) *Biochem Biophys Res Commun* 438(1): 84-9; Davila *et al*. (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338.

La enfermedad o afección que se trata puede ser cualquiera en la que la expresión de un antígeno esté asociada a y/o implicada en la etiología de una afección o trastorno patológico, por ejemplo, provoca, exacerba o está implicada de otra manera en dicha enfermedad, afección o trastorno. Los ejemplos de enfermedades y afecciones pueden incluir enfermedades o afecciones asociadas a neoplasia malignidad o transformación de células (por ejemplo, cáncer), enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria, o una enfermedad infecciosa, por ejemplo, provocada por un patógeno bacteriano, vírico u otro. Se han descrito anteriormente antígenos de ejemplo, que incluyen antígenos asociados a diversas enfermedades y afecciones que pueden tratarse. En divulgaciones particulares, el receptor de antígeno quimérico (CAR) o TCR transgénico se une específicamente a un antígeno asociado a la enfermedad o afección.

Entre las enfermedades, afecciones y trastornos se encuentran tumores, incluyendo tumores sólidos, neoplasias malignas hemáticas y melanomas, e incluyendo tumores localizados y metastásicos, enfermedades infecciosas, tales como una infección con un virus u otro patógeno, por ejemplo, VIH, VHC, VHB, CMV, VPH y enfermedades parasitarias y enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias.

En algunas divulgaciones, la enfermedad, trastorno o afección que va a tratarse es un tumor, cáncer, neoplasia maligna, neoplasia u otra enfermedad o trastorno proliferativo. Tales enfermedades incluyen pero no se limitan a leucemia, linfoma, por ejemplo, leucemia mieloide (o mielógena) aguda (LMA), leucemia mieloide (o mielógena) crónica (LMC), leucemia linfocítica (o linfoblástica) aguda (LLA), leucemia linfocítica crónica (LLC), tricoleucemia (HCL), linfoma linfocítico pequeño (LLP), linfoma de células del manto (LCM), linfoma de zona marginal (LZM), linfoma de Burkitt (LB), linfoma de Hodgkin (LH), linfoma no hodgkiniano (LNH), linfoma anaplásico de células grandes (LACG), linfoma folicular (LF), linfoma folicular resistente a tratamiento, linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) y mieloma múltiple (MM).

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que va a tratarse es una neoplasia maligna de linfocitos B. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es una neoplasia maligna de linfocitos B seleccionada entre la leucemia linfoblástica aguda (LLA), LLA adulto, leucemia linfoblástica crónica (LLC), linfoma no hodgkiniano (LNH) y linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un LNH. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma de linfocitos B grandes. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un LDLBG. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un LDLBG, no especificado de otra manera (LDLBG, NOS). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es LNH y el LNH se selecciona del grupo que consiste en LNH agresivo, linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), NOS (de novo o transformado a partir de indolente), linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP), linfoma de linfocitos B grandes ricos en histocitos/linfocitos T (LLBGRHLT), linfoma de Burkitt (LB), linfoma de células del manto (LCM) y/o linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, el linfoma folicular es un linfoma folicular de grado 3B (LF3B). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma de células del manto (LCM).

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que va a tratarse de acuerdo con los métodos, usos y artículos de fabricación divulgados, es LDLBG. En algunas divulgaciones, LDLBG es un LDLBG, no especificado de otra manera (NOS), que en algunos casos, puede caracterizarse como de novo o transformarse a partir de una enfermedad indolente.

En algunas divulgaciones, un sujeto que tiene un LDLBG, NOS seleccionado para el tratamiento y/o que se trata de acuerdo con cualquiera de los métodos divulgados, tiene un LDLBG que no es un LDLBG con ubicación extraganglionar predominante, un LDLBG que no es un linfoma de células grandes de linfocitos B diferenciados terminalmente, o un LDLBG que no es una neoplasia de linfocitos B con características intermediadas entre el LDLBG y otros tumores linfoides.

En algunas divulgaciones, un sujeto que tiene un LDLBG, NOS seleccionado para el tratamiento y/o que se trata de acuerdo con cualquiera de los métodos divulgados, tiene un LDLBG que no es un linfoma de linfocitos B grandes rico en histocitos/linfocitos T (LLBGRHLT), que no es un LDLBG primario del sistema nervioso central (SNC), que no es un LDCBG cutáneo primario, tipo de pierna, o un LDLBG positivo para el virus de Epstein-Barr (VEB) (p. ej., un LDLBG positivo para VEB de personas mayores) y, en algunos casos, un LDLBG que no es un LDLBG asociado a inflamación crónica.

En algunas divulgaciones, un sujeto que tiene un LDLBG, NOS seleccionado para el tratamiento y/o que se trata de acuerdo con cualquiera de los métodos divulgados, tiene un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un leucemialinfoma linfoblástico B (B-LBL), un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un linfoma de Burkitt, o un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un linfoma de células B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6. En algunas divulgaciones, LDLBG puede ser un LDLBG, NOS, que en algunos casos, se puede caracterizar como un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un leucemialinfoma linfoblástico B (B-LBL), un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un linfoma de Burkitt, o un linfoma de linfocitos B de alto grado que no

es un linfoma de células B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6.

En algunas divulgaciones, un sujeto que tiene un LDLBG, NOS seleccionado para el tratamiento y/o que se trata de acuerdo con cualquiera de los métodos divulgados, tiene un LDLBG que es similar a linfocitos B del centro germinal (BCG) y similar a linfocitos B activados (LBA) según las características moleculares y/o citogenéticas de las células de origen.

En algunas divulgaciones, el LDLBG es un LDLBG de novo o primario. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección (como el linfoma como el LDLBG) se transforma a partir de un subtipo diferente de enfermedad o afección, tal como transformado a partir de un linfoma indolente, como un linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, tales otros linfomas indolentes pueden incluir, por ejemplo, linfoma de linfocitos B de zona marginal (LZM) y leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico de células pequeñas (LLC/LLP). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es LDLBG transformado a partir de linfoma folicular (LFt); en algunas divulgaciones, es un LDLBG transformado a partir de otro linfoma indolente. En algunas divulgaciones, el sujeto se sospecha o se caracteriza como que tiene linfoma folicular transformado (LFt). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un LDLBG transformado a partir de LF. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un LDLBG transformado a partir de un linfoma indolente distinto de un LF.

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que va a tratarse de acuerdo con los métodos, usos y artículos de fabricación divulgados, es LDLBG que se transforma a partir de otro linfoma indolente, tal como LDLBG transformado a partir de linfoma de zona marginal (LZMt) o LDLBG transformado a partir de leucemia linfocítica crónica (LLCt; de Richter). En algunos casos, la enfermedad o afección es LDLBG LZMt o LDLBG LLCt. En algunas divulgaciones, es una enfermedad o afección transformada a partir de un linfoma indolente distinto del LF. En algunas divulgaciones, es un LDLBG o linfoma de linfocitos B grandes, tal como un LDLBG o un linfoma de linfocitos B grandes transformado a partir de un LF u otro linfoma indolente. En algunas divulgaciones, el sujeto se caracteriza como que tiene LDLBG transformado a partir de otro linfoma indolente, tal como LDLBG LZMt o LDLBG LLCt.

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, el sujeto se selecciona para el tratamiento si el sujeto tiene un linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, el LF muestra o está asociado a folículos neoplásicos que muestran zonas de manto atenuadas, pérdida de polarización y/o ausencia de macrófagos corporales tangibles. En algunas divulgaciones, el LF está asociado a una mezcla de centrocitos y centroblastos. En algunas divulgaciones, el LF no está asociado a centrocitos. En algunas divulgaciones, el LF es un LF de grado 3. En algunas divulgaciones, el LF de grado 3 muestra o está asociado a más de 15 centroblastos por campo de alta potencia (CAP). En algunas divulgaciones, el LF está asociado a co-expresión de CD10, BCL6 y BCL2 dentro de los folículos. En algunas divulgaciones, el LF está asociado a o caracterizado por reordenamientos t(14;18)/IGH-BCL2 y/o BCL6. En algunas divulgaciones, el LF está asociado a una translocación t(14;18)/q32 y/o q21. En algunas divulgaciones, la translocación t(14; 18)(q32;q21) coloca la expresión de BCL2 bajo el control del potenciador del locus pesado (IGH) de inmunoglobulina (Ig). En algunas divulgaciones, t(14; 18) se detecta en aproximadamente el 90 % de los LF de grados 1 y 2, del 60 al 70 % de los casos de LF de grado 3A y del 15 al 30 % de los casos de LF de grado 3B. En algunas divulgaciones, el LF está asociado a las translocaciones de BCL2 t(2;18) y t(18;22). En algunas divulgaciones, el LF asociado a las translocaciones t(2;18) y t(18;22) también está asociado a reordenamientos de BCL6. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, el LF está asociado a co-expresión de CD 10, BCL6 y BCL2 dentro de los folículos, y/o reordenamientos t(14;18)/(q32;q21) (IGH-BCL2) y/o BCL6.

En algunas divulgaciones, el LF afecta a los ganglios linfáticos y/o al bazo, médula ósea, sangre periférica y otros sitios extraganglionares. En algunas divulgaciones, el LF afecta a los ganglios linfáticos. En algunas divulgaciones, las características a modo de ejemplo asociadas a LF incluyen las descritas en Choi et al. (2018) Arch Pathol Lab Med 142: 1330-1340; Luminari et al., (2012) Rev. Brad. Hematol. Hemoter., 34:54-59 y Salles (2007) ASH Education Book, 2007:216-25. En algunas divulgaciones, en el caso de LF, los parámetros a modo de ejemplo utilizados para evaluar el alcance de la carga de enfermedad incluyen parámetros tales como niveles de hemoglobina (por ejemplo, <12 g/dl o <10 g/dl), la velocidad de sedimentación globular (VSG), nivel de deshidrogenasa láctica (LDH) y valor de β2-microglubilina (B2M), la expresión génica, polimorfismos de un solo nucleótido (SNP; por ejemplo, en los documentos IL-8, IL-2, Il-12B e IL1RN), expresión de miARN y expresión de proteínas (p. ej., CD68, STAT1, FOXP3, CD57). (Salles (2007) ASH Education Book, 2007:216-25). En el caso de LF, el alcance o la carga de la enfermedad puede evaluarse mediante el sistema de estadificación de Ann Arbor, carga tumoral, neoplasia maligna con gran masa tumoral, número de sitios ganglionares o extraganglionares de enfermedad y/o afectación de la médula ósea.

En algunas divulgaciones, las tasas de supervivencia en sujetos, tales como sujetos con LF, se basan en sistemas de puntuación desarrollados por el Intergrupo Italiano de Linfoma (ILI) y/o el Proyecto Internacional de Factor de Pronóstico del Linfoma Folicular (IFLPFP). (Luminari et al., (2012) Rev. Brad. Hematol. Hemoter., 34:54-59). En algunas divulgaciones, la puntuación ILI se basa en los roles pronósticos independientes de la edad, el sexo, síntomas B, número de sitios extraganglionares, velocidad de sedimentación globular (VSG) y deshidrogenasa láctica (LDH). En algunas divulgaciones, la puntuación IFLPFP se basa en los factores de riesgo de la edad, estadio de Ann Arbor, nivel de hemoglobina, número de áreas de sitios ganglionares y niveles séricos de LDH. En algunos casos, las puntuaciones IFLPFP se pueden utilizar para caracterizar o predecir las tasas de supervivencia global de

sujetos con LF.

En algunas divulgaciones, los métodos divulgados implican seleccionar un sujeto que tiene un linfoma folicular (LF) para el tratamiento; y administrar al sujeto una dosis de linfocitos T que comprende linfocitos T que expresan un receptor recombinante que se une específicamente a un antígeno diana expresado por LF o una célula o tejido de la misma y/o que está asociado a LF.

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, la dosis de linfocitos T comprende una dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$, en donde los linfocitos T de cada dosis comprenden un receptor recombinante que se une específicamente a un antígeno diana expresado por LF o una célula o tejido de la misma y/o que está asociado a LF, en donde la administración comprende administrar una pluralidad de composiciones separadas, la pluralidad de composiciones separadas que comprende una primera composición que comprende linfocitos T $CD8^+$ y una segunda composición que comprende linfocitos T $CD4^+$.

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma extraganglionar de linfocitos B no Hodgkin de alto grado. En algunas divulgaciones, el linfoma extraganglionar de linfocitos B no Hodgkin de alto grado es el linfoma primario del SNC (LPSNC). En algunas divulgaciones, el LPSNC involucra el sistema nervioso central (SNC) sin presencia de linfoma sistémico. En algunas divulgaciones, el LPSNC está confinado en el cerebro, la columna vertebral, el líquido cefalorraquídeo (LCR) y los ojos. En algunas divulgaciones, el LPSNC es un linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG). En algunas divulgaciones, el LPSNC es un linfoma de Burkitt, de bajo grado o de linfocitos T. En algunas divulgaciones, el LPSNC incluye signos neurológicos. En algunas divulgaciones, los signos neurológicos incluyen déficits neurológicos focales, cambios de estado mental y de comportamiento, síntomas de aumento de la presión intracraneal y/o convulsiones. En algunas divulgaciones, las características a modo de ejemplo asociadas a la enfermedad o afección incluyen las descritas en Grommes et al. (J. Clin Oncol 2017; 35(21):2410-18).

En algunas divulgaciones, el sujeto para el tratamiento de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento no tiene un linfoma primario del sistema nervioso central (LPSNC).

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma secundario del sistema nervioso central (LSSNC). En algunas divulgaciones, el LSSNC está en pacientes con linfoma sistémico. En algunas divulgaciones, el LSSNC se denomina linfoma metastásico. En algunas divulgaciones, el LSSNC es un LDLBG. En algunas divulgaciones, el LSSNC es un linfoma agresivo que puede afectar el cerebro, las meninges, la médula espinal y los ojos. En algunas divulgaciones, el LSSNC incluye diseminación leptomeníngea. En algunas divulgaciones, el LSSNC incluye enfermedad parenquimatosa cerebral. En algunas divulgaciones, las características a modo de ejemplo asociadas a la enfermedad o afección incluyen las descritas en Malikova et al. (Neurophychiatric Disease and Treatment 2018; 14:733-40.)

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un linfoma de linfocitos B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6, opcionalmente con histología de LDLBG. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es un LDLBG NOS (de novo o transformado a partir de indolente). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) o linfoma folicular grado 3B (LF3B). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, es un LDLBG con afectación del SNC. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene una recaída de LDLBG en el sistema nervioso central (linfoma secundario del SNC). En algunas divulgaciones, el linfoma secundario del SNC afecta el parénquima cerebral y/o las leptomeninges. En algunas divulgaciones, el sujeto se ha tratado o ha recibido previamente al menos o al menos aproximadamente o aproximadamente 1, 2, 3, 4 o 5 terapias adicionales para tratar la enfermedad o el trastorno. En algunas divulgaciones, el sujeto ha recibido previamente metrotrexato, tiotepa y/o citarabina. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene LCM que ha recaído después de recibir metrotrexato, tiotepa y/o citarabina. En algunas divulgaciones, el sujeto había recibido terapia de células madre hematopoyéticas (TCMH) anterior, por ejemplo, un TCMH alogénico o un TCMH autólogo.

En algunas divulgaciones, el sujeto tiene o ha sido identificado que tiene un linfoma de doble/triple impacto o un linfoma de los subtipos moleculares de doble/triple impacto. En algunas divulgaciones, el linfoma es un linfoma de doble impacto caracterizado por la presencia de MYC (oncogén de mielocitomatosis), reordenamientos (p. ej., translocaciones) de los genes BCL2 (linfoma de linfocitos B 2) y/o BCL6 (linfoma de linfocitos B 6). En algunas divulgaciones, el reordenamiento de genes afecta al locus MYC/8q24 en combinación con otro reordenamiento de genes. Por ejemplo, el otro reordenamiento genético incluye t(14;18)(q32;q21) que involucra a BCL2. En algunas divulgaciones, los reordenamientos de genes afectan el locus MYC/8q24 en combinación con BCL6/3q27. En algunas divulgaciones, el linfoma es un linfoma de triple impacto caracterizado por la presencia de reordenamientos de genes MYC, BCL2 y BCL6; véase, por ejemplo, Aukema et al., (2011) Blood 117:2319-2331. En algunas divulgaciones, el sujeto es ECOG 0-1 o no tiene o no se sospecha o se caracteriza como que tiene LDLBG transformado a partir de LZM o LLC. En divulgaciones, la terapia está indicada para dichos sujetos y/o las instrucciones indican la administración a un sujeto dentro de dicha población. En algunas divulgaciones, basándose en los criterios de la OMS de 2016 (Swerdlow et al., (2016) Blood 127(20):2375-2390), el linfoma de doble/triple impacto puede considerarse linfoma de linfocitos B de alto grado, con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6

con histología de LDLBG (doble/triple impacto).

En algunas divulgaciones, el LNH se puede estadificar según la clasificación de Lugano (véase, por ejemplo, Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5). En algunos casos, los estadios se describen con números romanos del I al IV (1-4), y los linfomas en estadio limitado (I o II) que afectan un órgano fuera del sistema linfático (un órgano extraganglionar) se indican con una E. El estadio I representa la afectación de un ganglio o un grupo de ganglios adyacentes, o una sola lesión extraganglionar sin afectación ganglionar (IE). El estadio 2 representa la afectación de dos o más grupos ganglionares del mismo lado del diafragma o el estadio I o II por extensión ganglionar con afectación extraganglionar contigua limitada (IIE). El estadio III representa la afectación de los ganglios a ambos lados del diafragma o los ganglios por encima del diafragma con afectación del bazo. El estadio IV representa la afectación extralinfática no contigua adicional. Además, la "neoplasia maligna con gran masa tumoral" se puede utilizar para describir tumores grandes en el pecho, en particular para estadio II. La extensión de la enfermedad se determina mediante tomografía por emisión de positrones (TEP)-tomografía computarizada (TAC) para linfomas ávidos y TAC para histologías no ávidas. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto que va a tratarse de acuerdo con las divulgaciones tiene una enfermedad positiva para la tomografía por emisión de positrones (TEP).

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células, si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD19 previo comprende una célula que expresa CD 19.

En algunas divulgaciones, el indicador de estado de desempeño del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) puede usarse para evaluar o seleccionar sujetos para el tratamiento, por ejemplo, sujetos que han tenido un desempeño deficiente de terapias anteriores (véase, por ejemplo, Oken *et al*. (1982) *Am J Clin Oncol*. 5:649-655). La Escala del ECOG del Estado de Desempeño describe el nivel de funcionamiento de un paciente en términos de su capacidad para cuidarse a sí mismo, su actividad diaria y su capacidad física (por ejemplo, caminar, trabajar, etc.). En algunas divulgaciones, un estado de desempeño del ECOG de 0 indica que un sujeto puede realizar una actividad normal. En algunas divulgaciones, los sujetos con un estado de desempeño del ECOG de 1 presentan alguna restricción en la actividad física, pero el sujeto es totalmente ambulatorio. En algunas divulgaciones, los pacientes con un estado de desempeño del ECOG de 2 son más del 50 % ambulatorios. En algunos casos, el sujeto con un estado de desempeño del ECOG de 2 también puede tener capacidad de autocuidado; véase, por ejemplo, Sørensen *et al*., (1993) Br J Cancer 67(4) 773-775. Los criterios que reflejan el estado de desempeño del ECOG se describen en la **Tabla 1** a continuación:

Tabla 1. Criterios de estado funcional del ECOG

Grado	Estado funcional del ECOG
0	Totalmente activo, capaz de realizar todo el desempeño previo a la enfermedad sin restricciones
1	Restringido en actividad físicamente extenuante, pero ambulatorio y capaz de realizar trabajos de naturaleza ligera o sedentaria, por ejemplo, trabajo doméstico ligero, trabajo de oficina
2	Ambulatorio y capaz de todo autocuidado, pero incapaz de realizar ninguna actividad laboral; levantado y aproximadamente más del 50 % de las horas de vigilia
3	Capaz de sólo autocuidado limitado; confinado a la cama o silla más del 50 % de las horas de vigilia
4	Totalmente incapacitado; no puede realizar ningún autocuidado; totalmente confinado a la cama o silla
5	Muerto

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una o más terapias anteriores para la enfermedad o afecciones distintas de otra dosis de células que expresan el CAR. En algunas divulgaciones, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una, dos o tres o más terapias previas (que no sean otra dosis de células que expresan el CAR). En algunas divulgaciones, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una terapia anterior (distinta de otra dosis de células que expresan el CAR), por ejemplo, de modo que la dosis de células sea una terapia de segunda línea. En algunas divulgaciones, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, dos o más terapias anteriores (que no sean otra dosis de células que expresan el CAR), por ejemplo, de modo que la dosis de células sea una terapia de tercera línea o posterior, tal como una terapia de cuarta línea.

En algunos casos que se divulgan en el presente documento, los sujetos que van a tratarse de acuerdo con las divulgaciones incluyen sujetos adultos con linfoma de linfocitos B grandes agresivo recurrente o resistente a tratamiento (LLBG R/R). Los sujetos elegibles tenían linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG, no especificado de otra manera [NOS]; incluyendo LDLBG transformado a partir de histología indolente [LDLBGt]), linfoma de linfocitos B de alto grado con reordenamientos de *MYC* y *BCL2* y/o *BCL6* con histología de LDLBG, linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP), o linfoma folicular de grado 3B después del tratamiento con 2 o más terapias anteriores. En algunas divulgaciones, los sujetos con linfoma secundario del SNC pueden tratarse de

acuerdo con las divulgaciones. En algunas divulgaciones, los sujetos que consiguieron una respuesta completa después de la infusión de un CAR anti-CD19 pero que recayeron pueden ser tratados de acuerdo con las divulgaciones. En algunas divulgaciones, los sujetos a los que previamente se les ha administrado una terapia de linfocitos T que expresan CAR, por ejemplo, linfocitos T modificados mediante ingeniería genética que expresan el mismo linfocito T CAR+, que habían conseguido un cáncer estable (CE) como su mejor respuesta después de la primera infusión pueden tratarse de acuerdo con las divulgaciones, por ejemplo, como una segunda infusión o ciclo de la terapia de linfocitos T que expresan CAR.

En algunas divulgaciones, en el momento o antes de la administración de la dosis de células: el sujeto tiene o se ha identificado que tiene un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento; y/o el sujeto se trata o se ha tratado con una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20; y/o el sujeto tiene o ha tenido una enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de dos o más líneas de terapia o después de un TCMH autólogo; y/o el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional de ECOG de 1 o 2; y/o si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD19 previo comprende una célula que expresa CD19. En algunas divulgaciones, la administración de la dosis de células se realiza a través de suministro ambulatorio.

En algunas divulgaciones, los sujetos que van a tratarse de acuerdo con las divulgaciones, tal como en un entorno ambulatorio, por ejemplo, en centros no terciarios, incluyen pacientes adultos con LNH de linfocitos B recurrente/resistente a tratamiento. En algunas divulgaciones, el sujeto que va a tratarse de acuerdo con las divulgaciones, por ejemplo en un entorno ambulatorio, incluye sujetos con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), LDLBG transformado que surge de linfoma folicular (LDLBGt) y linfoma de linfocitos B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología de LDLBG. En algunas divulgaciones, el sujeto que va a tratarse de acuerdo con las divulgaciones, por ejemplo en un entorno ambulatorio, incluye sujetos que han sido tratados con antraciclina y rituximab y tienen enfermedad recurrente/resistente a tratamiento después de 2 o más líneas de terapia sistémica para LDLBG o después de TCMH autólogo.

En algunas divulgaciones, antes de la administración de la dosis de células que se realiza a través de suministro ambulatorio, las divulgaciones implican identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que es o tiene: un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento; y/o una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20; y/o enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de dos o más líneas de terapia o después de un TCMH autólogo; y/o un estado funcional del ECOG de 1 o 2; y/o si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después del tratamiento dirigido a CD 19 previo comprende una célula que expresa CD19.

En algunas divulgaciones, antes de la administración de la dosis de células, las divulgaciones implican identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que tiene: un linfoma de doble/triple impacto; un linfoma resistente a quimioterapia, opcionalmente un LDLBG resistente a quimioterapia; no ha conseguido la remisión completa (RC) en respuesta a una terapia anterior para tratar la neoplasia maligna, opcionalmente el LNH; y/o ha recaído en el intervalo de 1 año o menos de 1 año después de recibir un trasplante de células madre autólogo (TCMA); y/o tiene un linfoma asociado con o que implica afectación del sistema nervioso central (SNC).

En algunas divulgaciones, los sujetos que van a tratarse de acuerdo con las divulgaciones incluyen sujetos adultos que han recaído o son resistentes a tratamiento a una sola línea de inmunoquimioterapia para el LNH de linfocitos B agresivo y no son elegibles para el TCMH. En algunas divulgaciones, los sujetos que van a tratarse de acuerdo con las divulgaciones incluyen sujetos que tienen linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), no especificado de otra manera (NOS; linfoma folicular de novo o transformado [LFt]), linfoma de linfocitos B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología de LDLBG (linfoma de doble/triple impacto [LDI/LTI]) y linfoma folicular de grado 3B después de 1 línea anterior de inmunoquimioterapia que contiene una antraciclina y un agente dirigido a CD20. En algunas divulgaciones, los sujetos que va a tratarse de acuerdo con las divulgaciones incluyen sujetos con afectación secundaria del SNC. En algunas divulgaciones, los sujetos que van a tratarse de acuerdo con las divulgaciones incluyen sujetos que se consideran no elegibles tanto para quimioterapia de dosis alta como para TCMH y no son elegibles para trasplante (TNE), sin dejar de ser elegibles para la terapia de linfocitos T-CAR. En algunas divulgaciones, los sujetos que son TNE incluyen sujetos que cumplen al menos uno de los siguientes criterios de TNE: (a) edad ≥70 años; (b) estado funcional del ECOG de 2; y/o (c) función pulmonar (capacidad de difusión del pulmón para monóxido de carbono [DPCO] ≤60 %, pero SaO_2 ≥92 % en aire ambiente y CTCAE ≤1 disnea), cardiaca (fracción de eyección del ventrículo izquierdo [FEVI] ≥40 % y <50 %), renal (aclaramiento de creatinina >30 y 60 ml/min) o hepática (AST/ALT >2 y ≤5 × LSN) deterioradas. En algunas divulgaciones, los sujetos que van a tratarse de acuerdo con las divulgaciones incluyen sujetos a los que previamente se les ha administrado una terapia de linfocitos T que expresan CAR, por ejemplo, linfocitos T modificados mediante ingeniería genética que expresan el mismo linfocito T CAR+, que habían conseguido una respuesta completa (RC) después de la primera infusión pero que recayeron, por ejemplo, como una segunda infusión de la terapia de linfocitos T que expresan CAR.

En algunas divulgaciones, antes de la administración de la dosis de células, las divulgaciones implican identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que tiene un LNH recurrente/resistente a

tratamiento; que se identifica o se ha identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH); y que ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, una terapia anterior para la enfermedad o afección distinta de otra dosis de células que expresan el CAR.

En algunas divulgaciones, antes de la administración de la dosis de células, las divulgaciones implican identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que es o tiene: 70 años o más; y/o un estado funcional del ECOG de 2; y/o una función pulmonar deteriorada, opcionalmente con una capacidad de difusión de los pulmones para monóxido de carbono (DLCO) de exactamente o aproximadamente el 60 % o menos; y/o una función cardiaca deteriorada, opcionalmente con una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) inferior a exactamente o aproximadamente el 50 %; y/o una función renal deteriorada, opcionalmente con un aclaramiento de creatinina calculado inferior a exactamente o aproximadamente 60 ml/min; y/o una función hepática deteriorada, opcionalmente con una aspartato aminotransferasa (AST) y una alanina aminotransferasa (ALT) de más del o aproximadamente el doble del límite superior de la normalidad (LSN).

En algunas divulgaciones, el sujeto para el tratamiento de acuerdo con las divulgaciones incluye sujetos que tienen una función orgánica adecuada. En algunas divulgaciones, los criterios de modo de ejemplo para determinar la función orgánica adecuada incluyen: concentración de saturación de O_2 $SaO_2 \geq 92$ % con aire ambiente y) Criterios Terminológicos Comunes para Acontecimientos Adversos (CTCAE) ≤1 disnea; FEVI ≥ 40 %; aclaramiento de creatinina calculado (Cockcroft y Gault) > 30 ml/min; AST/ALT ≤ 5 × LSN; función adecuada de la médula ósea para recibir quimioterapia con reducción de linfocitos; y/o bilirrubina total < 2,0 mg/dl (o < 3,0 mg/dl para sujetos con síndrome de Gilbert o infiltración linfomatosa del hígado).

En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es o está asociada a una enfermedad o afección infecciosa, tal como, pero sin limitación, infecciones víricas, retrovíricas, bacterianas y protozoarias, inmunodeficiencia, citomegalovirus (CMV), virus Epstein Barr (VEB), adenovirus, poliomavirus BK. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es una enfermedad o afección autoinmunitaria o inflamatoria, tales como artritis, por ejemplo, artritis reumatoide (RA, por sus siglas en inglés), diabetes de tipo I, lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad inflamatoria intestinal, psoriasis, esclerodermia, enfermedad tiroidea autoinmunitaria, enfermedad de Grave, enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, asma y/o una enfermedad o afección asociada a trasplante.

En algunas divulgaciones, el antígeno asociado a la enfermedad o trastorno se selecciona de entre integrina αvβ6 (integrina avb6), antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), B7-H3, B7-H6, anhidrasa carbónica 9 (CA9, también conocida como CAIX o G250), un antígeno de cáncer de testículo, antígeno de cáncer/testículo 1B (CTAG, también conocido como NY-ESO-1 y LAGE-2), antígeno carcinoembrionario (CEA), una ciclina, ciclina A2, Ligando 1 de la quimiocina con motivo C-C (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD133, CD138, CD171, proteoglicano 4 de sulfato de condroitina (CSPG4), proteína del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico de tipo III (EGFR vIII), glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), efrina B2, receptor de efrina A2 (EPHa2), receptor de estrógeno, 5 similar a receptor Fc (FCRL5; también conocido como homólogo 5 de receptor Fc o FCRH5), receptor de acetilcolina fetal (AchR fetal), una proteína de unión a folato (FPB), receptor de folato alfa, ganglíosido GD2, GD2 O-acetilado (OGD2), ganglíosido GD3, glicoproteína 100 (gp100), glipicano-3 (GPC3), receptor 5D acoplado a proteína G (GPRC5D), Her2/neu (tirosina cinasa receptora erb-B2), Her3 (erb-B3), Her4 (erb-B4), dímeros de erbB, Antígeno asociado a melanoma de alto peso molecular humano (HMW-MAA), antígeno de superficie de hepatitis B, Antígeno leucocitario humano A1 (HLA-A1), Antígeno leucocitario humano A2 (HLA-A2), receptor de IL-22 alfa (IL-22Rα), receptor de IL-13 alfa 2 (IL-13Rα2), receptor de dominio de inserto de cinasa (kdr), cadena ligera kappa, molécula de adhesión celular L1 (L1-CAM), epítopo CE7 de L1-CAM, Repetición rica en leucina que contiene 8 miembros de la familia A (LRRC8A), Lewis Y, Antígeno asociado al melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MAGE-A10, mesotelina (MSLN), c-Met, citomegalovirus murino (CMV), mucina 1 (MUC1), MUC16, ligandos del miembro D del grupo 2 citolítico natural (NKG2D), melan A (MART-1), molécula de adhesión de células neurales (NCAM), antígeno oncofetal, Antígeno de melanoma expresado preferentemente (PRAME), receptor de progesterona, un antígeno específico de la próstata, antígeno de células madre prostáticas (PSCA), antígeno de membrana específico de próstata (PSMA, del inglés "prostate specific membrane antigen"), receptor huérfano 1 similar a tirosina cinasa receptora (ROR1), glicoproteína trofoblástica (TPBG también conocida como 5T4), glicoproteína 72 asociada a tumor (TAG72), proteína 1 relacionada con tirosinasa (TRP1, también conocida como TYRP1 o gp75), proteína 2 relacionada con tirosinasa (TRP2, también conocida como dopacromo tautomerasa, dopacromo delta-isomerasa o DCT), receptor del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR), receptor 2 del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR2), tumor de Wilms 1 (WT-1), un antígeno específico de patógeno o expresado por patógeno, o un antígeno asociado a un marcador universal, y/o moléculas biotiniladas, y/o moléculas expresadas por VIH, VHC, VHB u otros patógenos. Los antígenos dirigidos por los receptores en algunas divulgaciones incluyen antígenos asociados a una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como cualquiera de un número de marcadores de linfocitos B conocidos. En algunas divulgaciones, el antígeno es o incluye CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Igkappa, Iglambda, CD79a, CD79b o CD30. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B grandes (p. ej., LDLBG) y el antígeno es CD19.

En algunas divulgaciones, el antígeno es o incluye un antígeno específico de patógeno o expresado por patógeno. En algunas divulgaciones, el antígeno es un antígeno vírico (tal como un antígeno vírico del VIH, VHC, VHB, etc.), antígenos bacterianos y/o antígenos parasitarios. En algunas divulgaciones, la terapia celular, por ejemplo, la terapia adoptiva de linfocitos T, se realiza mediante transferencia autóloga, en la que las células se aíslan y/o se preparan de otro modo a partir del sujeto que ha de recibir la terapia celular, o a partir de una muestra derivada de un sujeto de este tipo. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, las células derivan de un sujeto, por ejemplo, paciente, que necesita un tratamiento y las células, después del aislamiento y el procesamiento se administran al mismo sujeto.

En algunas divulgaciones, la terapia celular, por ejemplo, la terapia adoptiva de linfocitos T, se realiza por transferencia alógena, en la que las células se aíslan y/o se preparan de otro modo a partir de un sujeto distinto de un sujeto que ha de recibir o que en última instancia recibe la terapia celular, por ejemplo, un primer sujeto. En dichas divulgaciones, las células después se administran a un sujeto diferente, por ejemplo, un segundo sujeto, de la misma especie. En algunas divulgaciones, los sujetos primero y segundo son genéticamente idénticos. En algunas divulgaciones, los sujetos primero y segundo son genéticamente similares. En algunas divulgaciones, el segundo sujeto expresa la misma clase o supertipo de HLA que el primer sujeto.

Las células pueden administrarse por cualquier medio adecuado, por ejemplo, mediante infusión en bolo, mediante inyección, por ejemplo, inyecciones intravenosas o subcutáneas, inyección intraocular, inyección periocular, inyección subretiniana, inyección intravítrea, inyección trans-septal, inyección subescleral, inyección intracoroidal, inyección intracameral, inyección subconjuntiva, inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección peribulbar o suministro yuxtaescleral posterior. En algunas divulgaciones, se administran por vía parenteral, por vía intrapulmonar e intranasal, y, si se desea para un tratamiento local, administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. En algunas divulgaciones, una dosis dada se administra mediante una única administración en bolo de las células. En algunas divulgaciones, se administra mediante múltiples administraciones en bolo de las células, por ejemplo, durante un período de no más de 3 días, o mediante la administración por infusión continua de las células. En algunas divulgaciones, la administración de la dosis celular o cualquier terapia adicional, por ejemplo, la terapia con reducción de linfocitos, la terapia de intervención y/o la terapia de combinación, se realizan a través de un suministro ambulatorio.

En algunas divulgaciones, la administración de la dosis celular o cualquier terapia adicional, por ejemplo, la terapia con reducción de linfocitos, la terapia de intervención y/o la terapia de combinación, se realizan a través de un suministro hospitalario. En algunas divulgaciones, la administración de la dosis celular o cualquier terapia adicional, por ejemplo, la terapia con reducción de linfocitos, la terapia de intervención y/o la terapia de combinación, se realiza en un entorno hospitalario, por ejemplo, en centros médicos universitarios. En algunas divulgaciones, la terapia se recibe en un entorno ambulatorio, por ejemplo, en centros médicos no universitarios. En algunas divulgaciones, la administración y la gestión de la terapia celular o cualquier terapia adicional, por ejemplo, la terapia con reducción de linfocitos, la terapia de intervención y/o la terapia de combinación, en un entorno ambulatorio puede dar como resultado una utilización más amplia en centros comunitarios/no universitarios y un mejor acceso.

Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosificación adecuada puede depender del tipo de enfermedad que ha de tratarse, del tipo de células o receptores recombinantes, la gravedad y la evolución de la enfermedad, si las células se administran con fines preventivos o terapéuticos, la terapia anterior, los antecedentes clínicos del sujeto y la respuesta a las células, y el criterio del médico especialista. Las composiciones y células se administran en algunas divulgaciones de manera adecuada al sujeto de una sola vez o durante una serie de tratamientos.

En algunas divulgaciones, las células se administran como parte de un tratamiento de combinación, tal como simultáneamente con o secuencialmente con, en cualquier orden, otra intervención terapéutica o adicional, tal como un anticuerpo o célula modificada por ingeniería genética o receptor o agente, tal como un agente citotóxico o terapéutico. Las células en algunas divulgaciones se coadministran con uno o más agentes terapéuticos adicionales o en relación con otra intervención terapéutica, ya sea simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden. En algunas divulgaciones, el agente terapéutico adicional es cualquier intervención o agente descrito en el presente documento, tal como cualquier intervención o agente descrito que pueda mejorar los síntomas de toxicidad descritos en el presente documento, por ejemplo, en Sección II. En algunos contextos, las células se coadministran con otra terapia suficientemente cercana en el tiempo de manera que las poblaciones celulares potencian el efecto de uno o más agentes terapéuticos adicionales, o viceversa. En algunas divulgaciones, las células se administran antes de los uno o más agentes terapéuticos. En algunas divulgaciones, las células se administran después del uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunas divulgaciones, el uno o más agentes adicionales incluyen una citocina, tales como IL-2, por ejemplo, para potenciar la persistencia. En algunas divulgaciones, los métodos comprenden la administración de un agente quimioterápico.

En algunas divulgaciones, los métodos comprenden la administración de un agente quimioterápico, por ejemplo, un agente quimioterápico de acondicionamiento, por ejemplo, para reducir la carga tumoral antes de la administración.

El preacondicionamiento de sujetos con terapias de agotamiento inmunitario (por ejemplo, reducción de linfocitos) en

algunas divulgaciones puede mejorar los efectos de la terapia celular adoptiva (ACT, por sus siglas en inglés).

Por lo tanto, en algunas divulgaciones, los métodos incluyen administrar un agente de preacondicionamiento, tal como un agente con reducción de linfocitos o quimioterápico, tal como ciclofosfamida, fludarabina o combinaciones de las mismas, a un sujeto antes del inicio de la terapia celular. Por ejemplo, al sujeto se le puede administrar un agente de preacondicionamiento al menos 2 días antes, tal como al menos 3, 4, 5, 6 o 7 días antes, del inicio de la terapia celular. En algunas divulgaciones, al sujeto se le administra un agente de preacondicionamiento no más de 7 días antes, tal como no más de 6, 5, 4, 3 o 2 días antes, del inicio de la terapia celular.

En algunas divulgaciones, el sujeto se preacondiciona con ciclofosfamida a una dosis de entre o entre aproximadamente 20 mg/kg y 100 mg/kg de peso corporal del sujeto, tal como entre o entre aproximadamente 40 mg/kg y 80 mg/kg. En algunas divulgaciones, el sujeto se preacondiciona o se le administra con o con aproximadamente 60 mg/kg de ciclofosfamida. En algunas divulgaciones, la ciclofosfamida puede administrarse en una dosis única o puede administrarse en una pluralidad de dosis, tal como se proporciona diariamente, cada dos días o cada tres días. En algunas divulgaciones, la ciclofosfamida se administra una vez al día durante uno o dos días. En algunas divulgaciones, donde el agente con reducción de linfocitos comprende ciclofosfamida, al sujeto se le administra ciclofosfamida a una dosis de entre o entre aproximadamente 100 mg/m^2 y 500 mg/m^2 de área de superficie corporal del sujeto, tal como entre o entre aproximadamente 200 mg/m^2 y 400 mg/m^2, o 250 mg/m^2 y 350 mg/m^2, inclusive. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran aproximadamente 100 mg/m^2 de ciclofosfamida. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran aproximadamente 150 mg/m^2 de ciclofosfamida. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran aproximadamente 200 mg/m^2 de ciclofosfamida. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran aproximadamente 250 mg/m^2 de ciclofosfamida. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran aproximadamente 300 mg/m^2 de ciclofosfamida. En algunas divulgaciones, la ciclofosfamida puede administrarse en una dosis única o puede administrarse en una pluralidad de dosis, tal como se proporciona diariamente, cada dos días o cada tres días. En algunas divulgaciones, la ciclofosfamida se administra diariamente, tal como durante 1-5 días, por ejemplo, durante 3 a 5 días. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran aproximadamente 300 mg/m^2 de área de superficie corporal del sujeto, de ciclofosfamida, diariamente durante 3 días, antes del inicio de la terapia celular. En algunas divulgaciones, al sujeto se le administra un total de exactamente o aproximadamente 300 mg/m^2, 400 mg/m^2, 500 mg/m^2, 600 mg/m^2, 700 mg/m^2, 800 mg/m^2, 900 mg/m^2, 1000 mg/m^2, 1200 mg/m^2, 1500 mg/m^2, 1800 mg/m^2, 2000 mg/m^2, 2500 mg/m^2, 2700 mg/m^2, 3000 mg/m^2, 3300 mg/m^2, 3600 mg/m^2, 4000 mg/m^2 o 5000 mg/m^2 de ciclofosfamida, o un intervalo definido por cualquiera de los anteriores, antes del inicio de la terapia celular.

En algunas divulgaciones, donde el agente con reducción de linfocitos comprende fludarabina, al sujeto se le administra fludarabina a una dosis entre exactamente o aproximadamente 1 mg/m^2 y exactamente o 100 mg/m^2, tal como entre exactamente o aproximadamente 10 mg/m^2 y exactamente o aproximadamente 75 mg/m^2, exactamente o aproximadamente 15 mg/m^2 y exactamente o aproximadamente 50 mg/m^2, exactamente o aproximadamente 20 mg/m^2 y exactamente o aproximadamente 40 mg/m^2, exactamente o aproximadamente 24 mg/m^2 y exactamente o aproximadamente 35 mg/m^2, inclusive. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran exactamente o aproximadamente 10 mg/m^2 de fludarabina. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran exactamente o aproximadamente 15 mg/m^2 de fludarabina. En algunos casos, al sujeto se le administran exactamente o aproximadamente 20 mg/m^2 de fludarabina. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran exactamente o aproximadamente 25 mg/m^2 de fludarabina. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran exactamente o aproximadamente 30 mg/m^2 de fludarabina. En algunas divulgaciones, la fludarabina puede administrarse en una dosis única o puede administrarse en una pluralidad de dosis, tal como se proporciona diariamente, cada dos días o cada tres días. En algunas divulgaciones, la fludarabina se administra diariamente, tal como durante 1-5 días, por ejemplo, durante 3 a 5 días. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, al sujeto se le administran exactamente o aproximadamente 30 mg/m^2 de área de superficie corporal del sujeto, de fludarabina, diariamente durante 3 días, antes del inicio de la terapia celular. En algunas divulgaciones, al sujeto se le administra un total de exactamente o aproximadamente 10 mg/m^2, 20 mg/m^2, 25 mg/m^2, 30 mg/m^2, 40 mg/m^2, 50 mg/m^2, 60 mg/m^2, 70 mg/m^2, 80 mg/m^2, 90 mg/m^2, 100 mg/m^2, 120 mg/m^2, 150 mg/m^2, 180 mg/m^2, 200 mg/m^2, 250 mg/m^2, 270 mg/m^2, 300 mg/m^2, 330 mg/m^2, 360 mg/m^2, 400 mg/m^2 o 500 mg/m^2 de ciclofosfamida, o un intervalo definido por cualquiera de los anteriores, antes del inicio de la terapia celular.

En algunas divulgaciones, el agente con reducción de linfocitos comprende un solo agente, tal como ciclofosfamida o fludarabina. En algunas divulgaciones, al sujeto se le administra ciclofosfamida sólo, sin fludarabina u otros agentes de reducción de linfocitos. En algunas divulgaciones, antes de la administración, el sujeto ha recibido una terapia con reducción de linfocitos que comprende la administración de ciclofosfamida a exactamente o aproximadamente 200-400 mg/m^2 de área de superficie corporal del sujeto, opcionalmente a exactamente o aproximadamente 300 mg/m^2, diariamente, Durante 2-4 días. En algunas divulgaciones, al sujeto se le administra fludarabina sólo, por ejemplo, sin ciclofosfamida u otros agentes de reducción de linfocitos. En algunas divulgaciones, antes de la administración, el sujeto ha recibido una terapia con reducción de linfocitos que comprende la administración de fludarabina a exactamente o aproximadamente 20-40 mg/m^2 de área de superficie

corporal del sujeto, opcionalmente a exactamente o aproximadamente 30 mg/m^2, diariamente, Durante 2-4 días.

En algunas divulgaciones, el agente con reducción de linfocitos comprende una combinación de agentes, tal como una combinación de ciclofosfamida y fludarabina. Por lo tanto, la combinación de agentes puede incluir ciclofosfamida en cualquier dosis o esquema de administración, tales como los descritos anteriormente, y fludarabina a cualquier dosis o esquema de administración, tales como aquellos descritos anteriormente. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, al sujeto se le administran exactamente o aproximadamente 60 mg/kg (~2 g/m^2) de ciclofosfamida y de 3 a 5 dosis de 25 mg/m^2 de fludarabina antes de la primera dosis o posterior. En algunos sujetos se les administra fludarabina (30 mg/m^2/día durante 3 días) y ciclofosfamida (300 mg/m^2/día durante 3 días) (flu/ci) simultáneamente, por vía intravenosa, antes de la administración de las células. En algunas divulgaciones, al sujeto se le administra una dosis reducida, retrasada o eliminada de una o más dosis del agente(s) con reducción de linfocitos.

En algunas divulgaciones, después de recoger las células de un sujeto (por ejemplo, mediante leucocitaféresis) para modificar mediante ingeniería genética las células de la terapia celular con un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) como se describe en la Sección III.E y antes de la terapia con reducción de linfocitos, el sujeto puede recibir una terapia de transición. En algunas divulgaciones, la terapia de transición es una quimioterapia. La terapia de transición puede ser cualquier terapia anticancerígena para el control de la enfermedad antes de recibir la dosis de linfocitos T (por ejemplo, CAR+) modificados mediante ingeniería genética. Se puede administrar cualquiera de una variedad de terapias como terapia de transición basándose en el criterio de un médico experto para tratar la enfermedad o afección particular, incluyendo basándose en factores tal como la edad del paciente, gravedad o alcance de la enfermedad, potencial de efectos secundarios, momento de la administración antes de la terapia con reducción de linfocitos, terapias anteriores y otros factores. Una terapia de transición puede incluir radioterapia o una terapia sistémica. Las terapias a modo de ejemplo que se pueden administrar como transición antes de la terapia con reducción de linfocitos incluyen, pero sin limitación, rituximab, dexametasona, prednisona, lenalidomida, gemcitabina, oxaliplatino, brentuximab vedotina, ibrutininb o bendamustina, o cualquier combinación de cualquiera de los anteriores. En algún caso, la terapia de transición es gemcitabina y oxaliplatino. En algunos casos, la terapia de transición es gemcitabina y rituximab. En algunas divulgaciones, la terapia de transición es rituximab, gemcitabina y oxaliplatino. Antes de recibir la terapia con reducción de linfocitos, se evalúa el estado de la enfermedad del sujeto, tal como mediante tomografía de emisión de positrones (TEP). En algunas divulgaciones, sólo los sujetos que presentan enfermedad positiva por TEP después de la terapia de transición reciben la terapia con reducción de linfocitos y se les administra la dosis de linfocitos T (por ejemplo, CAR+) modificados por ingeniería genética. En otras divulgaciones, si el sujeto consigue una RC después de la terapia de transición, el sujeto no recibe la terapia con reducción de linfocitos ni la dosis de linfocitos T (por ejemplo, CAR+) modificados por ingeniería genética.

Después de la administración de las células, se mide la actividad biológica de las poblaciones de células modificadas por ingeniería genética en algunas divulgaciones, por ejemplo, mediante cualquiera de un número de métodos conocidos. Los parámetros que han de evaluarse incluyen la unión específica de un linfocito T modificado o natural u otra célula inmunitaria al antígeno, *in vivo*, por ejemplo, mediante la formación de imágenes, o *ex vivo*, por ejemplo, mediante ELISA o citometría de flujo. En determinadas divulgaciones, la capacidad de las células modificadas por ingeniería genética para destruir células diana puede medirse usando cualesquier métodos conocidos adecuados, tales como los ensayos de citotoxicidad que se describen en, por ejemplo, Kochenderfer *et al.*, *J. Immunotherapy*, 32(7): 689-702 (2009), y Herman et al. J. Immunological Methods, 285(1): 25-40 (2004). En determinadas divulgaciones, la actividad biológica de las células se mide sometiendo a ensayo la expresión y/o secreción de una o más citocinas, tales como CD107a, IFNγ, IL-2 y TNF. En algunas divulgaciones se mide la actividad biológica evaluando el resultado clínico, tal como la reducción de la carga o carga tumoral.

En determinadas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética se modifican adicionalmente en cualquier número de maneras, de manera que aumente su eficacia terapéutica o profiláctica. Por ejemplo, el CAR o TCR modificado por ingeniería genética expresado por la población puede conjugarse directa o indirectamente a través de un enlazador con un resto de direccionamiento. La práctica de conjugar compuestos, por ejemplo, el CAR o TCR, con restos de direccionamiento es conocido. Véase, por ejemplo, Wadwa *et al.*, J. Drug Targeting 3: 1 1 1 (1995), y patente de los EE.UU. 5.087.616. En algunas divulgaciones, las células se administran como parte de un tratamiento de combinación, tal como simultáneamente con o secuencialmente con, en cualquier orden, otra intervención terapéutica, tal como un anticuerpo o célula modificada por ingeniería genética o receptor o agente, tal como un agente citotóxico o terapéutico. Las células en algunas divulgaciones se coadministran con uno o más agentes terapéuticos adicionales o en relación con otra intervención terapéutica, ya sea simultáneamente o secuencialmente en cualquier orden. En algunos contextos, las células se coadministran con otra terapia suficientemente cercana en el tiempo de manera que las poblaciones celulares potencian el efecto de uno o más agentes terapéuticos adicionales, o viceversa. En algunas divulgaciones, las células se administran antes de los uno o más agentes terapéuticos. En algunas divulgaciones, las células se administran después del uno o más agentes terapéuticos adicionales. En algunas divulgaciones, el uno o más agentes adicionales incluyen una citocina, tales como IL-2, por ejemplo, para potenciar la persistencia.

En algunas divulgaciones, los sujetos están premedicados, por ejemplo, para minimizar el riesgo de reacción a la infusión. En algunas divulgaciones, la premedicación incluye la administración de un analgésico y/o un

antihistamínico. En algunas divulgaciones, la premedicación incluye la administración de acetaminofeno y/o difenhidramina u otro antihistamínico H1. En algunas divulgaciones, el paciente con acetaminofeno (por ejemplo, 650 mg por vía oral) y difenhidramina (por ejemplo, 25-50 mg, por vía IV u oral), u otro antihistamínico H1, exactamente o aproximadamente de 30 a 60 minutos antes del tratamiento con la terapia celular.

B. Dosificación

En algunas divulgaciones, se administra una dosis de células a los sujetos de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan. En algunas divulgaciones, el tamaño o el momento de las dosis se determina en función de la enfermedad o afección particular en el sujeto. En algunos casos, el tamaño o el momento de las dosis para una enfermedad particular en vista de la descripción que se divulga puede determinarse empíricamente.

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, la dosis de linfocitos T, tal como linfocitos T modificados por ingeniería genética que expresan un receptor recombinante, incluye está enriquecido para, o comprende una composición celular o una población celular que está enriquecida para, linfocitos T CD3+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. En algunas de cualquiera de estas divulgaciones, más de exactamente o aproximadamente el 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o el 98 % de las células en la dosis de linfocitos T son linfocitos T CD3+, linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+ o linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, la dosis de linfocitos T comprende una relación definida de células $CD4^+$ que expresan el receptor a células $CD8^+$ que expresan un receptor y/o de células $CD4^+$ con respecto a células $CD8^+$, relación que es de aproximadamente 1:1 o es de entre aproximadamente 1:3 y aproximadamente 3:1. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, la relación definida es o es aproximadamente 1:1.

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, la dosis de linfocitos T comprende una dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$, en donde los linfocitos T de cada dosis comprenden un receptor recombinante que se une específicamente a un antígeno diana expresado por la enfermedad o el trastorno, tal como cualquiera descrito en el presente documento, o una célula o tejido del mismo y/o que está asociado a la enfermedad o al trastorno. En algunas divulgaciones, la administración comprende administrar una pluralidad de composiciones separadas, la pluralidad de composiciones separadas que comprende una primera composición que comprende linfocitos T $CD8^+$ y una segunda composición que comprende linfocitos T $CD4^+$.

En algunas divulgaciones, la dosis de células comprende entre exactamente o aproximadamente 2×10^5 de las células/kg y exactamente o aproximadamente 2×10^6 de las células/kg, tal como entre exactamente o aproximadamente 4×10^5 de las células/kg y exactamente o aproximadamente 1×10^6 de las células/kg o entre exactamente o aproximadamente 6×10^5 de las células/kg y exactamente o aproximadamente 8×10^5 de las células/kg. En algunas divulgaciones, la dosis de células no comprende más de 2×10^5 de las células (por ejemplo, que expresan antígenos, tal como células que expresan CAR) por kilogramo de peso corporal del sujeto (células/kg), tal como no más de exactamente o aproximadamente 3×10^5 células/kg, no más de exactamente o aproximadamente 4×10^5 células/kg, no más de exactamente o aproximadamente 5×10^5 células/kg, no más de exactamente o aproximadamente 6×10^5 células/kg, no más de exactamente o aproximadamente 7×10^5 células/kg, no más de exactamente o aproximadamente 8×10^5 células/kg, no más de exactamente o aproximadamente 9×10^5 células/kg, no más de exactamente o aproximadamente 1×10^6 células/kg o no más de exactamente o aproximadamente 2×10^6 células/kg. En algunas divulgaciones, la dosis de células comprende al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 2×10^5 de las células (por ejemplo, que expresan antígenos, tal como células que expresan CAR) por kilogramo de peso corporal del sujeto (células/kg), tal como al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 3×10^5 células/kg, al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 4×10^5 células/kg, al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 5×10^5 células/kg, al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 6×10^5 células/kg, al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 7×10^5 células/kg, al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 8×10^5 células/kg, al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 9×10^5 células/kg, al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 1×10^6 células/kg, o al menos o al menos aproximadamente o exactamente o aproximadamente 2×10^6 células/kg. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables, por ejemplo, linfocitos T viables.

En determinadas divulgaciones, las células, o poblaciones individuales de subtipos de células, se administran al sujeto en un intervalo de exactamente o aproximadamente 0,1 millón a exactamente o aproximadamente 100 mil millones de células y/o esa cantidad de células por kilogramo de peso corporal del sujeto, tal como, *por ejemplo,* de exactamente o aproximadamente 0,1 millones a exactamente o aproximadamente 50 mil millones de células (*por ejemplo,* exactamente o aproximadamente 5 millones de células, exactamente o aproximadamente 25 millones de células, exactamente o aproximadamente 500 millones de células, exactamente o aproximadamente 1 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 5 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 20 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 30 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 40 mil millones de células o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores), de exactamente o aproximadamente 1 millones a exactamente o aproximadamente 50 mil millones de células (*por ejemplo,*

exactamente o aproximadamente 5 millones de células, exactamente o aproximadamente 25 millones de células, exactamente o aproximadamente 500 millones de células, exactamente o aproximadamente 1 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 5 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 20 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 30 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 40 mil millones de células o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores), tal como de exactamente o aproximadamente 10 millones a exactamente o aproximadamente 100 mil millones de células (*por ejemplo,* exactamente o aproximadamente 20 millones de células, exactamente o aproximadamente 30 millones de células, exactamente o aproximadamente 40 millones de células, exactamente o aproximadamente 60 millones de células, exactamente o aproximadamente 70 millones de células, exactamente o aproximadamente 80 millones de células, exactamente o aproximadamente 90 millones de células, exactamente o aproximadamente 10 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 25 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 50 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 75 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 90 mil millones de células, o un intervalo definido por dos cualesquiera de los valores anteriores), y en algunos casos de exactamente o aproximadamente 100 millones de células a exactamente o aproximadamente 50 mil millones de células (por ejemplo, exactamente o aproximadamente 120 millones de células, exactamente o aproximadamente 250 millones de células, exactamente o aproximadamente 350 millones de células, exactamente o aproximadamente 650 millones de células, exactamente o aproximadamente 800 millones de células, exactamente o aproximadamente 900 millones de células, exactamente o aproximadamente 3 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 30 mil millones de células, exactamente o aproximadamente 45 mil millones de células) o cualquier valor entre estos intervalos y/o por kilogramo de peso corporal del sujeto. Las dosis pueden variar dependiendo de atributos particulares de la enfermedad o trastorno y/o paciente y/u otros tratamientos. En algunas divulgaciones, dichos valores se refieren a números de células que expresan receptores recombinantes; en otras divulgaciones, se refieren al número de linfocitos T o PBMC o células totales administradas. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, la dosis de células es una dosis plana de células o una dosis fija de células de manera que la dosis de células no está vinculada o se basa en el área de superficie corporal o el peso de un sujeto.

En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente comprende de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente 5×10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente 1×10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 5×10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan

CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^7 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^7 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^7 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^8 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^8 a exactamente o aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente o $2{,}5 \times 10^8$ a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales. En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente comprende de o de aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente $1{,}5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, tal como de o de aproximadamente 5×10^7 a o a aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables, tal como linfocitos T viables.

En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente comprende al menos o al menos aproximadamente 1×10^5 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2{,}5 \times 10^5$ células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 5×10^5 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 1×10^6 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2{,}5 \times 10^6$ células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 5×10^6 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 1×10^7 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 5×10^7 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 1×10^8 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $1{,}5 \times 10^8$ células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2{,}5 \times 10^8$ células que expresan CAR, o al menos o al menos aproximadamente 5×10^8 células que expresan CAR. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables, tal como linfocitos T viables.

En algunas divulgaciones, la terapia celular comprende la administración de una dosis que comprende un número de células de o de aproximadamente 1×10^5 a o a aproximadamente 5×10^8 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), de o de aproximadamente 5×10^5 a o a aproximadamente 1×10^7 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales, o células mononucleares de sangre periférica total (PBMC) o de o de aproximadamente 1×10^6 a o a aproximadamente 1×10^7 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, la terapia celular comprende la administración de una dosis de células que comprende un número de células de al menos o al menos aproximadamente 1×10^5 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), tal como al menos o al menos 1×10^6, al menos o al menos aproximadamente 1×10^7, al menos o al menos aproximadamente 1×10^8 de tales células. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables, tal como linfocitos T viables.

En algunas divulgaciones, el número es con referencia al número total de $CD3^+$, $CD8^+$, o CD4+ y CD8+, en algunos casos también células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+). En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, la terapia celular comprende la administración de una dosis que comprende un número de células de o de aproximadamente 1×10^5 a o a aproximadamente 5×10^8 linfocitos T $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$ totales o células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$, de o de aproximadamente 5×10^5 a o a aproximadamente 1×10^7 linfocitos T $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$ totales o células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$, o de o de aproximadamente 1×10^6 a o a aproximadamente 1×10^7 linfocitos T $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$ totales o células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$, cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, la terapia celular comprende la administración de una dosis que comprende un número de células de o de aproximadamente 1×10^5 a o a aproximadamente 5×10^8 células $CAR^+/CD3^+$, $CAR^+/CD8^+$ o $CAR+/CD4^+/CD8^+$ totales, de o de aproximadamente 5×10^5 a o a aproximadamente 1×10^7 células $CAR^+/CD3^+$, $CAR^+/CD8^+$ o $CAR+/CD4^+/CD8^+$ totales, o de o de aproximadamente 1×10^6 a o a aproximadamente 1×10^7 células $CAR^+/CD3^+$, $CAR^+/CD8^+$ o $CAR^+/CD4^+/CD8^+$ totales, cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente comprende al menos o al menos

aproximadamente 2,5 × 10^7 linfocitos T $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$, al menos o al menos aproximadamente 5 × 10^7 linfocitos T $CD3^+/CAR^+$, $CAR^+/CD8^+$ o $CAR^+/CD4^+/CD8^+$, o al menos o al menos aproximadamente 1 × 10^8 linfocitos T $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$. En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente comprende exactamente o aproximadamente 2,5 × 10^7 linfocitos T $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$, exactamente o aproximadamente 5 × 10^7 linfocitos T $CD3^+/CAR^+$, $CAR^+/CD8^+$ o $CAR^+/CD4^+/CD8^+$, o exactamente o aproximadamente 1 × 10^8 linfocitos T $CD3^+/CAR^+$, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, la dosis de linfocitos T comprende: exactamente o aproximadamente 5 × 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) o exactamente o aproximadamente 2,5 × 10^7 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR). En algunas divulgaciones, la dosis de linfocitos T comprende: exactamente o aproximadamente 1 × 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) o exactamente o aproximadamente 5 × 10^7 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR). En algunas divulgaciones, la dosis de linfocitos T comprende: exactamente o aproximadamente 1,5 × 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) o exactamente o aproximadamente 0,75 × 10^8 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR). En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, los linfocitos T de la dosis incluyen linfocitos T $CD4^+$, linfocitos T $CD8^+$ o linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$.

En algunas divulgaciones, por ejemplo, cuando el sujeto es un ser humano, los linfocitos T CD8+ de la dosis, incluyendo en una dosis que incluye linfocitos T CD4+ y CD8+, incluye entre exactamente o aproximadamente 1 × 10^6 y exactamente o aproximadamente 5 × 10^8 células CD8+ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), por ejemplo, en el intervalo de desde exactamente o aproximadamente 5 × 10^6 hasta exactamente o aproximadamente 5 × 10^8 de tales células, tal como 1 × 10', 2,5 × 10^7, 5 × 10^7, 7,5 × 10^7, 1 × 10^8, 1,5 × 10^8 o 5 × 10^8 de tales células totales, o el intervalo entre cualesquiera dos de los valores anteriores. En algunas divulgaciones, al paciente se le administran múltiples dosis, y cada una de las dosis o la dosis total puede estar dentro de cualquiera de los valores anteriores. En algunas divulgaciones, la dosis de células comprende la administración de desde o desde aproximadamente 1 × 10^7 hasta o hasta aproximadamente 0,75 × 10^8 linfocitos T CD8+ que expresan receptores recombinantes totales, de o de aproximadamente 1 × 10^7 a o a aproximadamente 5 × 10^7 linfocitos T CD8+ que expresan receptores recombinantes totales, de o de aproximadamente 1 × 10^7 a o a aproximadamente 0,25 × 10^8 linfocitos T CD8+ que expresan receptores recombinantes totales, cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, la dosis de células comprende la administración de exactamente o aproximadamente 1 x 10^7, 2,5 × 10^7, 5 × 10^7, 7,5 × 10^7, 1 × 10^8, 1,5 × 10^8, 2,5 × 10^8 o 5 × 10^8 linfocitos T CD8+ que expresan receptores recombinantes totales. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, por ejemplo, cuando el sujeto es un ser humano, la dosis incluye menos de aproximadamente 5 × 10^8 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales, linfocitos T o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), por ejemplo, en el intervalo de exactamente o aproximadamente 1 × 10^6 a exactamente o aproximadamente 5 × 10^8 de tales células, tal como exactamente o aproximadamente 2 × 10^6, 5 × 10^6, 1 × 10^7, 5 × 10^7, 1 × 10^8, 1,5 × 10^8, o 5 × 10^8 de tales células, o el intervalo entre cualesquiera dos de los valores anteriores. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, al paciente se le administran múltiples dosis, y cada una de las dosis o la dosis total puede estar dentro de cualquiera de los valores anteriores. En algunas divulgaciones, la dosis de células comprende la administración de o de aproximadamente 1 × 10^5 a o a aproximadamente 5 × 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, de o de aproximadamente 1 × 10^5 a o a aproximadamente 1,5 × 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, de o de aproximadamente 1 × 10^5 a o a aproximadamente 1 × 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, de o de aproximadamente 5 × 10^5 a o a aproximadamente 1 × 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, o de o de aproximadamente 1 × 10^6 a o a aproximadamente 1 × 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, cada uno inclusive.

En algunas divulgaciones, los linfocitos T de la dosis incluyen linfocitos T $CD4^+$, linfocitos T $CD8^+$ o linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$.

En algunas divulgaciones, la dosis de células, por ejemplo, linfocitos T que expresan receptores recombinantes, se administra al sujeto como una dosis única o se administra sólo una vez dentro de un período de dos semanas, un mes, 3 meses, seis meses, 1 año o más.

En el contexto de la terapia celular adoptiva, la administración de una "dosis" dada abarca la administración de la

cantidad o número dado de células como una única composición y/o única administración ininterrumpida, por ejemplo, como una única inyección o infusión continua, y también abarca la administración de la cantidad o número dado de células como una dosis dividida o como una pluralidad de composiciones, proporcionada en múltiples composiciones o infusiones individuales, durante un período de tiempo especificado, tal como durante no más de 3 días. Por lo tanto, en algunos contextos, la dosis es una administración única o continua del número especificado de células, dada o iniciada en un único punto en el tiempo. En algunos contextos, sin embargo, la dosis se administra en múltiples inyecciones o infusiones durante un período de no más de tres días, tal como una vez al día durante tres días o durante dos días o mediante múltiples infusiones durante un período de un único día.

Por lo tanto, en algunas divulgaciones, las células de la dosis se administran en una única composición farmacéutica. En algunas divulgaciones, las células de la dosis se administran en una pluralidad de composiciones, que contienen colectivamente las células de la dosis.

En algunas divulgaciones, el término "dosis dividida" se refiere a una dosis que se divide para administrarse durante más de un día. Este tipo de dosificación está abarcado por los presentes métodos y se considera una dosis única.

Por lo tanto, la dosis de células puede administrarse como dosis dividida, por ejemplo, una dosis dividida administrada a lo largo del tiempo. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, la dosis se puede administrar al sujeto durante 2 días o durante 3 días. Los métodos a modo de ejemplo para la dosificación dividida incluyen administrar el 25 % de la dosis el primer día y administrar el 75 % restante de la dosis el segundo día. En otras divulgaciones, el 33 % de la dosis puede administrarse el primer día y el 67 % restante puede administrarse el segundo día. En algunas divulgaciones, el 10 % de la dosis se administra el primer día, el 30 % de la dosis se administra el segundo día y el 60 % de la dosis se administra el tercer día. En algunas divulgaciones, la dosis dividida no se reparte en más de 3 días.

En algunas divulgaciones, las células de la dosis pueden administrarse mediante la administración de una pluralidad de composiciones o soluciones, tal como una primera y una segunda, opcionalmente más, conteniendo cada una algunas células de la dosis. En algunas divulgaciones, la pluralidad de composiciones, conteniendo, en cada caso, una población y/o subtipos diferentes de células, se administran por separado o independientemente, opcionalmente dentro de un período de tiempo determinado. Por ejemplo, las poblaciones o subtipos de células pueden incluir linfocitos T $CD8^+$ y $CD4^+$, respectivamente, y/o poblaciones enriquecidas con $CD8^+$ y $CD4^+$, respectivamente, por ejemplo, linfocitos T $CD4^+$ y/o $CD8^+$ incluyendo cada uno individualmente células modificadas genéticamente para expresar el receptor recombinante. En algunas divulgaciones, la administración de la dosis comprende la administración de una primera composición que comprende una dosis de linfocitos T $CD8^+$ o una dosis de linfocitos T $CD4^+$ y la administración de una segunda composición que comprende la otra de la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y los linfocitos T $CD8^+$.

En algunas divulgaciones, la administración de la composición o dosis, por ejemplo, la administración de la pluralidad de composiciones celulares, implica la administración de las composiciones celulares por separado. En algunas divulgaciones, las administraciones separadas se realizan simultáneamente, o secuencialmente, en cualquier orden. En divulgaciones particulares, las administraciones separadas se realizan secuencialmente administrando, en cualquier orden, una primera composición que comprende una dosis de linfocitos T $CD8^+$ o una dosis de linfocitos T $CD4^+$ y una segunda composición que comprende la otra de la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y los linfocitos T $CD8^+$. En algunas divulgaciones, la dosis comprende una primera composición y una segunda composición, y la primera composición y la segunda composición se administran dentro de 48 horas entre sí, tal como no más de 36 horas entre sí o no más de 24 horas entre sí. En algunas divulgaciones, la primera composición y la segunda composición se administran con de 0 a 12 horas de diferencia, de 0 a 6 horas de diferencia o de 0 a 2 horas de diferencia. En algunas divulgaciones, el inicio de la administración de la primera composición y el inicio de la administración de la segunda composición se realizan con no más de 2 horas, no más de 1 hora de diferencia o no más de 30 minutos de diferencia, no más de 15 minutos, no más de 10 minutos o no más de 5 minutos de diferencia. En algunas divulgaciones, el inicio y/o finalización de la administración de la primera composición y la finalización y/o el inicio de la administración de la segunda composición se realizan con no más de 2 horas, no más de 1 hora de diferencia o no más de 30 minutos de diferencia, no más de 15 minutos, no más de 10 minutos o no más de 5 minutos de diferencia.

En algunas composiciones, la primera composición, por ejemplo, la primera composición de la dosis, comprende linfocitos T $CD4^+$. En algunas composiciones, la primera composición, por ejemplo, la primera composición de la dosis, comprende linfocitos T $CD8^+$. En algunas divulgaciones, la primera composición se administra antes de la segunda composición. En divulgaciones particulares, los linfocitos T CD8+ se administran antes que los linfocitos T CD4+.

En algunas divulgaciones, la dosis o composición de células incluye una relación definida u objetivo de células $CD4^+$ que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) a células $CD8^+$ que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) y/o de células $CD4^+$ a células $CD8^+$, relación que es opcionalmente de aproximadamente 1:1 o es de entre aproximadamente 1:3 y aproximadamente 3:1, tal como aproximadamente 1:1. En algunas divulgaciones, la administración de una composición o dosis con la relación objetivo o deseada de diferentes

poblaciones celulares (tal como relación $CD4^+$:$CD8^+$ o relación CAR^+CD4^+:CAR+$CD8^+$, por ejemplo, 1:1) implica la administración de una composición celular que contiene una de las poblaciones y después la administración de una composición celular separada que comprende la otra de las poblaciones, donde la administración es exactamente o aproximadamente en la relación objetivo o deseada. En algunas divulgaciones, la administración de una dosis o composición de células en una relación definida conduce a una expansión, una persistencia y/o una actividad antitumoral mejoradas de la terapia de linfocitos T.

En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente es o es de aproximadamente 5×10^7 células viables CD3+ CAR+, que incluye una dosis separada de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ células viables CD4+ CAR+ y exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ células viables CD8+CAR+. En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente es o es de aproximadamente 1×10^8 células viables CD3+CAR+, que incluye una dosis separada de exactamente o aproximadamente 5×10^7 células viables CD4+CAR+ y exactamente o aproximadamente 5×10^7 células viables CD8+CAR+. En algunas divulgaciones, la dosis de células modificadas genéticamente es o es de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ células viables CD3+CAR+, que incluye una dosis separada de exactamente o aproximadamente $0,75 \times 10^8$ células viables CD4+CAR+ y exactamente o aproximadamente $0,75 \times 10^8$ células viables CD8+CAR+.

En algunas divulgaciones, el sujeto recibe múltiples dosis, por ejemplo, dos o más dosis o múltiples dosis consecutivas, de las células. En algunas divulgaciones, dos dosis se administran a un sujeto. En algunas divulgaciones, el sujeto recibe la dosis consecutiva, por ejemplo, segunda dosis se administra aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 días después de la primera dosis. En algunas divulgaciones, se administran múltiples dosis consecutivas después de la primera dosis, de manera que se administre una dosis o dosis adicionales después de la administración de la dosis consecutiva. En algunas divulgaciones, el número de células administradas al sujeto en la dosis adicional es igual o similar a la primera dosis y/o dosis consecutiva. En algunas divulgaciones, la dosis o dosis adicionales son mayores que las dosis anteriores.

En algunas divulgaciones, el tamaño de la primera dosis y/o dosis consecutiva se determina basándose en uno o más criterios tales como la respuesta del sujeto al tratamiento anterior, p. ej. quimioterapia, carga de enfermedad en el sujeto, tal como la carga tumoral, el volumen, el tamaño o el grado, la extensión o tipo de metástasis, estadio y/o probabilidad o incidencia de que el sujeto desarrolle resultados tóxicos, por ejemplo, SLC, síndrome de activación de macrófagos, síndrome de lisis tumoral, neurotoxicidad y/o una respuesta inmunitaria del hospedador contra las células y/o receptores recombinantes que se administran.

En algunas divulgaciones, el tiempo entre la administración de la primera dosis y la administración de la dosis consecutiva es de aproximadamente 9 a aproximadamente 35 días, de aproximadamente 14 a aproximadamente 28 días o de 15 a 27 días. En algunas divulgaciones, la administración de la dosis consecutiva es en un momento de más de aproximadamente 14 días después y menos de aproximadamente 28 días después de la administración de la primera dosis. En algunas divulgaciones, el tiempo entre la primera dosis y la dosis consecutiva es de aproximadamente 21 días. En algunas divulgaciones, una dosis o dosis adicionales, por ejemplo dosis consecutivas, se administran tras la administración de la dosis consecutiva. En algunas divulgaciones, la dosis o dosis consecutivas adicionales se administran al menos aproximadamente 14 y menos de aproximadamente 28 días después de la administración de una dosis anterior. En algunas divulgaciones, la dosis adicional se administra menos de aproximadamente 14 días después de la dosis anterior, por ejemplo, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 13 días después de la primera dosis. En algunas divulgaciones, no se administra ninguna dosis menos de aproximadamente 14 días después de la dosis anterior y/o no se administra ninguna dosis más de aproximadamente 28 días después de la dosis anterior.

En algunas divulgaciones, la dosis de células, por ejemplo, células que expresan receptores recombinantes, comprende dos dosis (por ejemplo, una dosis doble), que comprende una primera dosis de los linfocitos T y una dosis consecutiva de los linfocitos T, en donde una o ambas de la primera dosis y la segunda dosis comprenden la administración de la dosis dividida de linfocitos T.

En algunas divulgaciones, la dosis de células es generalmente lo suficientemente grande como para ser eficaz a la hora de reducir la carga de enfermedad.

En algunas divulgaciones, las células se administran en una dosificación deseada, que en algunas divulgaciones incluye una dosis o número deseado de células o tipos de células y/o una relación deseada de tipos de células. Por lo tanto, la dosificación de células en algunas divulgaciones se basa en un número total de células (o número por kg de peso corporal) y una relación deseada de las poblaciones o subtipos individuales, como la relación de $CD4^+$ a $CD8^+$. En algunas divulgaciones, la dosificación de células se basa en un número total deseado (o número por kg de peso corporal) de células en las poblaciones individuales o de tipos de células individuales. En algunas divulgaciones, la dosis se basa en una combinación de tales características, tal como un número deseado de células totales, relación deseada y número total de células deseado en las poblaciones individuales.

En algunas divulgaciones, las poblaciones o subtipos de células, tal como linfocitos T $CD8^+$ y $CD4^+$, se administran en o dentro de una diferencia tolerada de una dosis deseada de células totales, tal como una dosis deseada de

linfocitos T. En algunas divulgaciones, la dosis deseada es un número deseado de células o un número deseado de células por unidad de peso corporal del sujeto al que se administran las células, por ejemplo, células/kg. En algunas divulgaciones, la dosis deseada es igual o superior a un número mínimo de células o un número mínimo de células por unidad de peso corporal. En algunas divulgaciones, entre las células totales, administradas en la dosis deseada, las poblaciones o subtipos individuales están presentes en o cerca de una relación de producción deseada (como relación de $CD4^+$ a $CD8^+$), por ejemplo, dentro de una determinada diferencia tolerada o error de dicha relación.

En algunas divulgaciones, las células se administran en o dentro de una diferencia tolerada de una dosis deseada de una o más de las poblaciones individuales o subtipos de células, como una dosis deseada de células $CD4^+$ y/o una dosis deseada de células $CD8^+$. En algunas divulgaciones, la dosis deseada es un número deseado de células del subtipo o población, o un número deseado de dichas células por unidad de peso corporal del sujeto al que se administran las células, por ejemplo, células/kg. En algunas divulgaciones, la dosis deseada es igual o superior a un número mínimo de células de la población o subtipo, o un número mínimo de células de la población o subtipo por unidad de peso corporal.

Por lo tanto, en algunas divulgaciones, la dosificación se basa en una dosis fija deseada de células totales y una relación deseada, y/o se basa en una dosis fija deseada de uno o más, por ejemplo, cada uno, de los subtipos o subpoblaciones individuales. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, la dosis se basa en una dosis fija o mínima deseada de linfocitos T y una relación deseada de células $CD4^+$ a $CD8^+$, y/o se basa en una dosis fija o mínima deseada de células $CD4^+$ y/o $CD8^+$.

En algunas divulgaciones, las células se administran en o dentro de un intervalo tolerado de una relación de producción deseada de múltiples poblaciones o subtipos de células, como células $CD4^+$ y $CD8^+$ o subtipos. En algunas divulgaciones, la relación deseada puede ser una relación específica o puede ser un intervalo de relaciones. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, la relación deseada (p. ej., relación de células $CD4^+$ a $CD8^+$) está entre exactamente o aproximadamente 5:1 y exactamente o aproximadamente 5:1 (o mayor que exactamente o aproximadamente 1:5 y menor que exactamente o aproximadamente 5:1), o entre exactamente o aproximadamente 1:3 o exactamente o aproximadamente 3:1 (o mayor que exactamente o aproximadamente 1:3 y menor que exactamente o aproximadamente 3:1), tal como entre exactamente o aproximadamente 2:1 y exactamente o aproximadamente 1:5 (o mayor que exactamente o aproximadamente 1:5 y menor que exactamente o aproximadamente 2:1), tal como 5:1, 4,5:1, 4:1, 3,5:1, 3:1, 2,5:1, 2:1, 1,9:1, 1,8: 1, 1,7:1, 1,6:1, 1,5:1, 1,4:1, 1,3:1, 1,2:1, 1,1:1, 1:1, 1:1,1, 1:1,2, 1:1,3, 1:1,4, 1:1,5, 1:1,6, 1:1,7, 1:1,8, 1:1,9: 1:2, 1:2,5, 1:3, 1:3,5, 1:4, 1:4,5 o 1:5. En algunas divulgaciones, la diferencia tolerada está dentro de aproximadamente el 1 %, aproximadamente el 2 %, aproximadamente el 3 %, aproximadamente el 4 %, aproximadamente el 5 %, aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 20 %, aproximadamente el 25 %, aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 35 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 45 %, aproximadamente el 50 % de la relación deseada, incluyendo cualquier valor entre estos intervalos.

En divulgaciones particulares, los números y/o las concentraciones de células se refieren al número de células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR). En otras divulgaciones, los números y/o las concentraciones de células se refieren al número o concentración de todas las células, linfocitos T o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC) administradas.

En algunas divulgaciones, el tamaño de la dosis se determina basándose en uno o más criterios tales como la respuesta del sujeto al tratamiento anterior, p. ej. quimioterapia, carga de enfermedad en el sujeto, tal como la carga tumoral, el volumen, el tamaño o el grado, la extensión o tipo de metástasis, estadio y/o probabilidad o incidencia de que el sujeto desarrolle resultados tóxicos, por ejemplo, SLC, síndrome de activación de macrófagos, síndrome de lisis tumoral, neurotoxicidad y/o una respuesta inmunitaria del hospedador contra las células y/o receptores recombinantes que se administran.

En algunas divulgaciones, los métodos también incluyen administrar una o más dosis adicionales de células que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) y/o terapia con reducción de linfocitos, y/o se repiten una o más etapas de los métodos. En algunas divulgaciones, la una o más dosis adicionales es la misma que la dosis inicial. En algunas divulgaciones, la una o más dosis adicionales son diferentes de la dosis inicial, por ejemplo, más alta, tal como exactamente o aproximadamente 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces o más veces más alta que la dosis inicial, o más baja, tales como, por ejemplo, más alta, tal como 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces o 10 veces o más veces más baja que la dosis inicial. En algunas divulgaciones, la administración de una o más dosis adicionales se determina en función de la respuesta del sujeto al tratamiento inicial o cualquier tratamiento anterior, carga de enfermedad en el sujeto, tal como la carga tumoral, el volumen, el tamaño o el grado, la extensión o tipo de metástasis, estadio y/o probabilidad o incidencia de que el sujeto desarrolle resultados tóxicos, por ejemplo, SLC, síndrome de activación de macrófagos, síndrome de lisis tumoral, neurotoxicidad y/o una respuesta inmunitaria del hospedador contra las células y/o receptores recombinantes que se administran.

C. Respuesta, Eficacia y supervivencia

En algunas divulgaciones, la administración trata eficazmente al sujeto a pesar de que el sujeto se ha vuelto resistente a otra terapia. En algunas divulgaciones, al menos el 30 %, al menos el 35 %, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen remisión completa (RC); y/o al menos aproximadamente el 40 %, al menos el 50 %, al menos aproximadamente el 60 % o al menos aproximadamente el 70 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método consiguen una respuesta objetiva (RO). En algunas divulgaciones, al menos o al menos aproximadamente el 50 % de los sujetos, al menos o al menos aproximadamente el 60 % de los sujetos, al menos o al menos aproximadamente el 70 % de los sujetos, al menos o al menos aproximadamente el 80 % de los sujetos o al menos o al menos aproximadamente el 90 % de los sujetos tratados según el método consiguen RC y/o consiguen una respuesta objetiva (RO). En algunas divulgaciones, los criterios evaluados para un tratamiento eficaz incluyen la tasa de respuesta global (TRO; también conocida en algunos casos como tasa de respuesta objetiva), la respuesta completa (RC; también conocida en algunos casos como remisión completa), duración de la respuesta (DR), supervivencia sin progresión (SSP) y/o supervivencia global (SVG).

En algunas divulgaciones, al menos el 40 % o al menos el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento consiguen remisión completa (RC; también conocida en algunos casos como respuesta completa), muestran supervivencia sin progresión (SSP) y/o supervivencia global (SVG) superior a exactamente o aproximadamente a los 3 meses, a los 6 meses o a los 12 meses o más de 13 meses o aproximadamente a los 14 meses; en promedio, los sujetos tratados de acuerdo con el método muestran una mediana de SSP o SVG superior a exactamente o aproximadamente 6 meses, 12 meses o 18 meses; y/o el sujeto muestra SSP o SVG después de la terapia durante al menos exactamente o aproximadamente 6, 12, 18 o más meses o más tiempo.

En algunas divulgaciones, las tasas de respuesta en sujetos, tales como sujetos con LNH, se basan en los criterios de Lugano. (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson *et al.*, (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5). En algunas divulgaciones, la evaluación de la respuesta utiliza cualquiera de los métodos clínicos, hematológicos y/o moleculares. En algunas divulgaciones, la respuesta evaluada utilizando los criterios de Lugano implica el uso de tomografía por emisión de positrones (TEP), tomografía computarizada (TAC) y/o TAC, según corresponda. Las evaluaciones de TEP-TAC pueden comprender además el uso de fluorodesoxiglucosa (FDG) para los linfomas ávidos de FDG. En algunas divulgaciones, donde se utilizará TEP-TAC para evaluar la respuesta en histologías ávidas de FDG, se puede utilizar una escala de 5 puntos. En algunos aspectos, la escala de 5 puntos comprende los siguientes criterios: 1, sin captación por encima del fondo; 2, captación ≤ mediastino; 3, captación > mediastino pero ≤ hígado; 4, absorción moderada > hígado; 5, absorción notablemente mayor que la del hígado y/o lesiones nuevas; X, nuevas áreas de captación que probablemente no estén relacionadas con el linfoma.

En algunas divulgaciones, una respuesta completa como se describe utilizando los criterios de Lugano implica una respuesta metabólica completa y una respuesta radiológica completa en varios sitios mensurables. En algunas divulgaciones, estos sitios incluyen ganglios linfáticos y sitios extralinfáticos, en donde una RC se describe como una puntuación de 1, 2 o 3 con o sin masa residual en la escala de 5 puntos, cuando se usa TEP-TAC. En algunas divulgaciones, en el anillo de Waldeyer o sitios extraganglionares con alta captación fisiológica o con activación dentro del bazo o la médula (por ejemplo, con quimioterapia o factores estimulantes de colonias mieloides), la absorción puede ser mayor que la normal en el mediastino y/o el hígado. En esta circunstancia, se puede inferir una respuesta metabólica completa si la captación en los sitios de afectación inicial no es mayor que la del tejido normal circundante, incluso si el tejido tiene una captación fisiológica alta. En algunas divulgaciones, la respuesta se evalúa en los ganglios linfáticos mediante TAC, en donde una RC se describe como que no hay sitios extralinfáticos de enfermedad y los ganglios diana/masas ganglionares deben retroceder a ≤ 1,5 cm en el diámetro transversal más largo de una lesión (LDi). Otros sitios de evaluación incluyen la médula ósea, en donde la evaluación basada en TEP-TAC debe indicar una falta de evidencia de enfermedad ávida de FDG en la médula y una evaluación basada en TAC debe indicar una morfología normal, que si es indeterminada debería ser IHC negativo. Otros sitios pueden incluir la evaluación del agrandamiento de órganos, que debería regresar a la normalidad. En algunas divulgaciones, se evalúan lesiones no medidas y lesiones nuevas, que en el caso de RC debería estar ausente (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson *et al.*, (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5).

En algunas divulgaciones, una respuesta parcial (RP; también conocida en algunos casos como remisión parcial), como se describe utilizando los criterios de Lugano, implica una respuesta metabólica y/o radiológica parcial en diversos sitios medibles. En algunas divulgaciones, estos sitios incluyen ganglios linfáticos y sitios extralinfáticos, en donde una RP se describe como una puntuación de 4 o 5 con captación reducida en comparación con el valor inicial y masa(s) residual(es) de cualquier tamaño, cuando se usa TEP-TAC. Mientras tanto, tales hallazgos pueden indicar una enfermedad que responde. Al final del tratamiento, tales hallazgos pueden indicar enfermedad residual. En algunas divulgaciones, la respuesta se evalúa en los ganglios linfáticos mediante TAC, en donde una RP se describe como una disminución de ≥50 % de SPD de hasta 6 ganglios medibles diana y sitios extraganglionares. Si una lesión es demasiado pequeña para medirla en una TAC, se asigna 5 mm × 5 mm como valor predeterminado; si la lesión ya no es visible, el valor es 0 mm × 0 mm; para un ganglio >5 mm × 5 mm, pero más pequeño de lo normal, las medidas reales se utilizan para el cálculo. Otros sitios de evaluación incluyen la médula ósea, en donde la

evaluación basada en TEP-TAC debe indicar una captación residual mayor que la captación en la médula normal pero reducida en comparación con el valor inicial (se permite la captación difusa compatible con los cambios reactivos de la quimioterapia). En algunas divulgaciones, si hay cambios focales persistentes en la médula en el contexto de una respuesta ganglionar, se debe considerar una evaluación adicional con IRM o biopsia, o una exploración de intervalo. En algunas divulgaciones, otros sitios pueden incluir la evaluación del agrandamiento de órganos, donde el bazo debe haber retrocedido >50 % en longitud más allá de lo normal. En algunas divulgaciones, se evalúan lesiones no medidas y lesiones nuevas, que en el caso de RP deberían estar ausentes/normales, retrocedidas, pero ningún aumento. También se puede medir la ausencia de respuesta/cáncer estable (CE) o progresión de la enfermedad (PE) usando evaluaciones basadas en TEP-TAC y/o TAC. (Cheson et al., (2014) JCO 32(27):3059-3067; Johnson *et al.*, (2015) Radiology 2:323-338; Cheson, B.D. (2015) Chin Clin Oncol 4(1):5).

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki, Conferencia Internacional sobre Armonización de pautas de Buenas Prácticas Clínicas y requisitos regulatorios aplicables.

En algunos aspectos, la supervivencia sin progresión (SSP) se describe como el periodo de tiempo durante y después del tratamiento de una enfermedad, tal como cáncer, que un sujeto vive con la enfermedad pero no empeora. En algunas divulgaciones, la respuesta objetiva (RO) se describe como una respuesta medible. En algunas divulgaciones, la tasa de respuesta objetiva (TRO; también conocida en algunos casos como tasa de respuesta global) se describe como la proporción de pacientes que consiguieron RC o RP. En algunas divulgaciones, la supervivencia global (SVG) se describe como el período de tiempo desde la fecha del diagnóstico o el inicio del tratamiento de una enfermedad, tal como cáncer, que los sujetos diagnosticados con la enfermedad todavía están vivos. En algunas divulgaciones, la supervivencia sin acontecimientos (SSA) se describe como el período de tiempo después de finalizar el tratamiento para un cáncer durante el cual el sujeto permanece sin determinadas complicaciones o acontecimientos que el tratamiento pretendía prevenir o retrasar. Estos acontecimientos pueden incluir el regreso del cáncer o la aparición de determinados síntomas, como dolor de huesos debido al cáncer que se ha extendido al hueso o la muerte.

En algunas divulgaciones, la medida de la duración de la respuesta (DR) incluye el tiempo desde la documentación de la respuesta del tumor hasta la progresión de la enfermedad. En algunas divulgaciones, el parámetro para evaluar la respuesta puede incluir una respuesta duradera, por ejemplo, respuesta que persiste después de un período de tiempo desde el inicio de la terapia. En algunas divulgaciones, la respuesta duradera está indicada por la tasa de respuesta en aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18 o 24 meses después del inicio de la terapia. En algunas divulgaciones, la respuesta es duradera durante más de 3 meses o más de 6 meses.

En algunas divulgaciones, los criterios RECIST se utilizan para determinar la respuesta tumoral objetiva; en algunas divulgaciones, en tumores sólidos. (Eisenhauer et al., European Journal of Cancer 45 (2009) 228-247.) En algunas divulgaciones, los criterios RECIST se utilizan para determinar la respuesta tumoral objetiva para las lesiones diana. En algunos aspectos, una respuesta completa determinada usando los criterios RECIST se describe como la desaparición de todas las lesiones diana y cualquier ganglio linfático patológico (ya sea diana o no diana) debe tener una reducción en el eje corto hasta <10 mm. En otras divulgaciones, una respuesta parcial determinada usando los criterios RECIST se describe como una disminución de al menos el 30 % en la suma de los diámetros de las lesiones diana, tomando como referencia la suma de los diámetros en la situación inicial. En otras divulgaciones, una progresión de la enfermedad (PE) se describe como un aumento de al menos un 20 % en la suma de los diámetros de las lesiones diana, tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma basal si es la más pequeña en el estudio). Además del aumento relativo del 20 %, la suma también debe demostrar un aumento absoluto de al menos 5 mm (en algunas divulgaciones también se considera progresión la aparición de una o más lesiones nuevas). En otras divulgaciones, el cáncer estable (CE) se describe como ni contracción suficiente para calificar RP ni aumento suficiente para calificar PE, tomando como referencia la suma más pequeña de los diámetros durante el estudio.

En algunas divulgaciones, las tasas de supervivencia en sujetos con linfoma folicular (LF) se basan en sistemas de puntuación desarrollados por el Intergrupo Italiano de Linfoma (ILI) y/o el Proyecto Internacional de Factor de Pronóstico del Linfoma Folicular (IFLPFP), generalmente como se describe anteriormente (Luminari et al., (2012) Rev. Brad. Hematol. Hemoter., 34:54-59). En algunas divulgaciones, el alcance de una enfermedad como un LF puede evaluarse mediante el sistema de estadificación de Ann Arbor, carga tumoral, neoplasia maligna con gran masa tumoral, número de sitios ganglionares o extraganglionares de enfermedad y/o afectación de la médula ósea, generalmente como se ha descrito anteriormente.

En algunas divulgaciones, la administración de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, generalmente reduce o previene la expansión o carga de enfermedad o afección en el sujeto. Por ejemplo, cuando la enfermedad o afección es un tumor, los métodos generalmente reducen el tamaño del tumor, el volumen, la metástasis, el porcentaje de blastos en la médula ósea o el cáncer detectable molecularmente y/o mejoran el pronóstico o la supervivencia u otro síntoma asociado a la carga tumoral.

La carga de enfermedad puede abarcar un número total de células de la enfermedad en el sujeto o en un órgano, tejido o fluido corporal del sujeto, tal como el órgano o tejido del tumor u otra ubicación, por ejemplo, lo que indicaría

metástasis. Por ejemplo, las células tumorales pueden detectarse y/o cuantificarse en la sangre o la médula ósea en el contexto de determinadas neoplasias malignas hemáticas. La carga de enfermedad puede incluir, en algunas divulgaciones, la masa de un tumor, el número o extensión de metástasis y/o el porcentaje de células blásticas presentes en la médula ósea.

En algunas divulgaciones, un sujeto tiene leucemia. La extensión de la carga de enfermedad puede determinarse mediante la evaluación de la leucemia residual en la sangre o la médula ósea.

En algunas divulgaciones, las tasas de respuesta en sujetos, tales como sujetos con CLL, se basan en los criterios de respuesta del Taller Internacional sobre Leucemia Linfocítica Crónica (IWCLL) (Hallek, *et al*., Blood 2008, 15 de junio; 111(12): 5446-5456). En algunas divulgaciones, estos criterios se describen de la siguiente manera: remisión completa (CR; también conocida en algunos casos como respuesta completa), que en algunas divulgaciones requiere la ausencia de linfocitos clonales de sangre periférica mediante inmunofenotipado, la ausencia de linfadenopatía, la ausencia de hepatomegalia o esplenomegalia, la ausencia de síntomas constitucionales y hemogramas satisfactorios; remisión completa con recuperación incompleta de la médula (CRi), que en algunas divulgaciones se describe como CR anterior, pero sin hemogramas normales; remisión parcial (PR; también conocida en algunos casos como respuesta parcial), que en algunas divulgaciones se describe como una caída ≥ 50 % en el recuento de linfocitos, una reducción ≥ 50 % en la linfadenopatía o una reducción ≥ 50 % en el hígado o bazo, junto con una mejora en los recuentos de sangre periférica; enfermedad progresiva (PD), que en algunas divulgaciones se describe como un aumento ≥ 50 % en el recuento de linfocitos a > 5 $\times 10^9$/l, un aumento ≥ 50 % en la linfadenopatía, un aumento ≥ 50 % en el tamaño del hígado o bazo, transformación de Richter o nuevas citopenias debidas a la CLL; y enfermedad estable, que en algunas divulgaciones se describe como que no cumple los criterios para CR, CRi, RP o PE.

En algunas divulgaciones, los sujetos presentan una RC u RO si, dentro de 1 mes de la administración de la dosis de células, los ganglios linfáticos en el sujeto tienen menos de exactamente o aproximadamente 20 mm de tamaño, menos de exactamente o aproximadamente 10 mm de tamaño o menos de exactamente o aproximadamente 10 mm de tamaño.

En algunas divulgaciones, no se detecta un clon índice de la CLL en la médula ósea del sujeto (o en la médula ósea de más del 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos. En algunas divulgaciones, un clon índice de la CLL se evalúa mediante secuenciación profunda de IgH. En algunas divulgaciones, el clon índice no se detecta en un momento que es exactamente o aproximadamente o al menos exactamente o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 o 24 meses después de la administración de las células.

En algunas divulgaciones, un sujeto presenta una enfermedad morfológica si hay más de o igual al 5 % de blastos en la médula ósea, por ejemplo, según se detecta mediante microscopía óptica, tal como más de o igual al 10 % de blastos en la médula ósea, más de o igual al 20 % de blastos en la médula ósea, más de o igual al 30 % de blastos en la médula ósea, más de o igual al 40 % de blastos en la médula ósea o más de o igual al 50 % de blastos en la médula ósea. En algunas divulgaciones, un sujeto presenta una remisión completa o clínica si hay menos del 5 % de blastos en la médula ósea.

En algunas divulgaciones, un sujeto tiene leucemia. La extensión de la carga de enfermedad puede determinarse mediante la evaluación de la leucemia residual en la sangre o la médula ósea.

En algunas divulgaciones, un sujeto presenta una enfermedad morfológica si hay más de o igual al 5 % de blastos en la médula ósea, por ejemplo, según se detecta mediante microscopía óptica, tal como más de o igual al 10 % de blastos en la médula ósea, más de o igual al 20 % de blastos en la médula ósea, más de o igual al 30 % de blastos en la médula ósea, más de o igual al 40 % de blastos en la médula ósea o más de o igual al 50 % de blastos en la médula ósea. En algunas divulgaciones, un sujeto presenta una remisión completa o clínica si hay menos del 5 % de blastos en la médula ósea.

En algunas divulgaciones, un sujeto puede presentar una remisión completa, pero hay presente una pequeña proporción de células leucémicas residuales morfológicamente indetectables (mediante técnicas de microscopía óptica). Se dice que un sujeto presenta enfermedad residual mínima (MRD) si el sujeto presenta menos del 5 % de blastos en la médula ósea y presenta cáncer detectable molecularmente. En algunas divulgaciones, el cáncer detectable molecularmente puede evaluarse usando cualquiera de una diversidad de técnicas moleculares que permiten la detección sensible de un pequeño número de células. En algunas divulgaciones, dichas técnicas incluyen ensayos de PCR, que pueden determinar reordenamientos únicos del gen del receptor de linfocitos T/Ig o transcritos de fusión producidos por translocaciones cromosómicas. En algunas divulgaciones, puede usarse citometría de flujo para identificar células cancerosas basándose en inmunofenotipos específicos de leucemia. En algunas divulgaciones, la detección molecular del cáncer puede detectar tan sólo 1 célula de leucemia en 100.000 células normales. En algunas divulgaciones, un sujeto presenta MRD que es detectable molecularmente si se detecta al menos o más de 1 célula de leucemia en 100.000 células, tal como mediante PCR o citometría de flujo. En algunas divulgaciones, la carga de enfermedad de un sujeto es indetectable molecularmente o MRD^-, de manera que, en algunos casos, no se pueden detectar células de leucemia en el sujeto usando PCR o técnicas de citometría

de flujo.

En algunas divulgaciones, un clon índice de la leucemia, por ejemplo, la CLL, no se detecta en la médula ósea del sujeto (o en la médula ósea de más del 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos. En algunas divulgaciones, un clon índice de la leucemia, por ejemplo, la CLL, se evalúa mediante secuenciación profunda de IGH. En algunas divulgaciones, el clon índice no se detecta en un momento que es exactamente o aproximadamente o al menos exactamente o aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18 o 24 meses después de la administración de las células.

En algunas divulgaciones, la MRD se detecta mediante citometría de flujo. La citometría de flujo puede usarse para controlar muestras de médula ósea y sangre periférica para detectar células cancerosas. En divulgaciones particulares, la citometría de flujo se usa para detectar o controlar la presencia de células cancerosas en la médula ósea. En algunas divulgaciones, se usa detección inmunológica multiparamétrica mediante citometría de flujo para detectar células cancerosas (véase, por ejemplo, Coustan-Smith *et al.*, (1998) Lancet 351:550-554). En algunas divulgaciones, se usa detección inmunológica multiparamétrica mediante citometría de masas para detectar células cancerosas. En algunas divulgaciones, pueden usarse 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 parámetros para detectar células cancerosas. Los antígenos utilizados para la detección se seleccionan basándose en el cáncer que se está detectando (Foon y Todd (1986) Blood 68:1-31).

En algunas divulgaciones, la médula ósea se recoge mediante aspirados de médula ósea o biopsias de médula ósea, y los linfocitos se aíslan para su análisis. Anticuerpos monoclonales y/o policlonales conjugados con un fluorocromo (*p. ej.*, isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina, proteína clorofila peridinina o biotina) se pueden utilizar para detectar epítopos, tales como la desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT), CD3, CD10, CD11c, CD13, CD14, CD33, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD34, CD45, CD56, CD79b, IgM y/o KORSA3544, en linfocitos aislados. Después, las células marcadas pueden detectarse mediante citometría de flujo, tal como citometría de flujo multiparamétrica o la citometría de masas, para detectar múltiples epítopos.

Las células linfoides pueden identificarse y seleccionarse basándose en un gráfico de puntos de dispersión de luz y, después, pueden seleccionarse secundariamente para identificar poblaciones celulares que expresan las características inmunofenotípicas de interés. Se exponen epítopos ilustrativos en la **Tabla 2** a continuación. Otra clasificación inmunológica de leucemias y linfomas se proporciona en Foon and Todd (Blood (1986) 68(1): 1-31). En algunas divulgaciones, la evaluación por citometría de flujo de la MRD puede conseguirse cuantificando linfocitos vivos que portan uno o más inmunofenotipos de CLL (por ejemplo, dispersión frontal/lateral baja; $CD3^{neg}$; $CD5^{+}$; $CD14^{neg}$; $CD19^{+}$; $CD23^{+}$; $CD45^{+}$; $CD56^{neg}$).

Tabla 2. Características de inmunofenotipo y citogenética de ejemplo

Enfermedad	Inmunofenotipo	Citogenética
Leucemia linfocítica crónica (CLL)	Pan-B+; CD5+; CD23+; CD79b/CD22 débil; FMC7-; sIg débil	Trisomy12
		del(13)(q14.3)
		del 11q22-q23
		del 17p13 (p53)
		t(11;14)(q13;q32) Reordenamiento de BCL1/IgH
		t(14;19)(q32;q13)
		Deleción de IgH (14q32)
		del(6q)
		+8q24
		+3
		+18
		del 6q21
Linfoma linfocítico de células pequeñas (SLL)	Pan-B+; CD5+; CD23+; CD10-; sIgM+ muy débil	del(6)(q21-23)
Linfoma linfoplasmacítico	Pan-B+; CD5-; CD10-; cyIgM+	t(9;14)(pl3;q32) PAX5/IgH
Linfoma de células del centro del folículo	Pan-B+; CD10+/-; CD5-; sIg+	Reordenamiento t(14;18)(q32;q21) / BCL2
Linfoma difuso de células grandes	CD19+; CD22+; CD10-/+; SIg+	Mutaciones t(14;18) y p53 variantes de reordenamiento t(3;V)(q27;V)/ BCL6 reordenamiento c-MYC

(continuación)

Tabla 2. Características de inmunofenotipo y citogenética de ejemplo		
Enfermedad	**Inmunofenotipo**	**Citogenética**
Linfoma de Burkitt	Pan-B+; TdT-; CD10+; CD5-; sIgM+	t(8;14)(q24;q32) o variantes / reordenamiento c-MYC
Linfoma similar a Burkitt	Pan-B+; TdT-; CD10-/+ CD5-; sIg+	t(8;14) o variantes t(8;14)+ t(14;18)
Linfoma de células del manto	Pan-B +; CD5+; CD23-; CD10-/+;	Reordenamiento t(11;14)(q13;q32) / BCL1
	sIgM+ brillante	
Linfoma de linfocitos B de zona marginal (LLBZM)	pan-B+; CD5-/+; CD10-; CD23-; CD11c+/-; cyIg+ (40 % de las células), sIgM+ brillante; sIgD-	Fusión t(11;18)(q21;q21) / PI2 / MLT: Linfoma MALT extraganglionar de bajo grado; enfermedad indolente
		t(1;14)(p21;q32): Linfoma MALT extraganglionar
		del(7)(q22-31): LLBZM esplénico /+3q: LLBZM ganglionar, extraganglionar y esplénico
+: positivo en >90 % de los casos +/-: positivo en más del 50 % de los casos -/+: positivo en menos del 50 % de los casos -: positivo en <10 % de los casos Marcadores Pan-B: por ejemplo, CD19, CD20, CD79a sIG: inmunoglobulinas de superficie cyIg: inmunoglobulinas citoplasmáticas		

En algunas divulgaciones, la secuenciación profunda del locus de la cadena pesada de inmunoglobulina (IGH, por sus siglas en inglés) de los linfocitos B recogidos puede usarse para detectar la enfermedad residual mínima (MRD). La presencia clonal de un reordenamiento de IgG particular puede proporcionar un marcador para detectar la presencia de neoplasias malignas de linfocitos B, tales como LLC o LNH y/o presencia residual de células malignas de la misma. En algunas divulgaciones, las células, tales como una población que contiene o se sospecha que contiene linfocitos B, se recogen y aíslan de la sangre. En algunas divulgaciones, las células se recogen y se aíslan de médula ósea, por ejemplo, de aspirados de médula ósea o biopsias de médula ósea y/o de otras muestras biológicas. En algunas divulgaciones, la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región determinante de complementariedad 3 (CDR3) se consigue usando cebadores para secuencias altamente conservadas dentro de las regiones V y J del locus génico, que pueden usarse para identificar poblaciones clonales de células con fines de evaluación de la enfermedad residual mínima. Otros métodos para detectar poblaciones clonales, como los enfoques de secuenciación unicelular, incluyendo aquellos que proporcionan información sobre el número de células de un linaje particular y/o que expresan una cadena variable particular tal como una cadena pesada variable o un sitio de unión de la misma, como una población clonal, pueden usarse. En algunas divulgaciones, el ADN de IGH se amplifica usando cebadores degenerados o cebadores que reconocen regiones de cadenas variables compartidas entre diferentes clones celulares, tales como aquellas que reconocen la región de consenso V y la región de consenso degenerada J de la secuencia de IGH. Una secuencia de ejemplo de la región V es ACACGGCCTCGTGTATTACTGT (SEQ ID NO: 57). Una secuencia consenso degenerada de ejemplo de la región J es ACCTGAGGAGACGGTGACC (SEQ ID NO: 58).

El producto de PCR o el resultado de secuenciación en algunas divulgaciones son específicos del alelo reorganizado y sirven como marcadores clonales para la detección de MRD. Después de la amplificación por PCR de la región CDR3, los productos de PCR pueden secuenciarse para producir oligonucleótidos específicos de paciente construidos como sondas para PCR específica de alelo para la detección sensible de MRD después del tratamiento de neoplasias malignas de linfocitos B con terapia de linfocitos T-CAR, por ejemplo, terapia de linfocitos T CAR CD19. En divulgaciones donde no se genera un producto de PCR usando los cebadores de consenso, en su lugar pueden usarse cebadores específicos de la familia de la región V para la región marco conservada 1.

En algunas divulgaciones, la persistencia de células tumorales detectables por PCR, tales como células de la neoplasia maligna de linfocitos B, tal como el LNH o LLC, tales como secuencias de IGH detectables que corresponden a las secuencias de IGH malignas o clonales, después del tratamiento, se asocia a un mayor riesgo de recaída. En algunas divulgaciones, los pacientes negativos para secuencias de IGH malignas después del tratamiento (en algunas divulgaciones, incluso en el contexto de otros criterios que indican enfermedad progresiva o sólo una respuesta parcial, tales como la persistencia de ganglios linfáticos agrandados u otros criterios que pueden asociarse en algunos contextos a la enfermedad o la falta de respuesta completa) pueden considerarse que tienen una mayor probabilidad de SSP o de entrar en RC o RC duradera o supervivencia prolongada, en comparación con los pacientes con secuencias de IGH malignas persistentes. En algunas divulgaciones, dichas determinaciones de pronóstico y estadificación son particularmente relevantes para tratamientos en los que se observa la eliminación de células malignas dentro de un período de tiempo corto después de la administración de la terapia, por ejemplo, en comparación con la resolución de otros síntomas clínicos tales como el tamaño de los ganglios linfáticos u otros

criterios de estadificación. Por ejemplo, en algunas de dichas divulgaciones, la ausencia de IGH detectable o enfermedad residual mínima en una muestra tal como la médula ósea puede ser una lectura preferida para la respuesta o probabilidad de respuesta o durabilidad de la misma, en comparación con otros enfoques de estadificación o pronóstico disponibles. En algunas divulgaciones, los resultados de MRD, por ejemplo, la información de secuenciación profunda de IGH, puede informar de una intervención adicional o la falta de la misma. Por ejemplo, los métodos y otras divulgaciones en algunos contextos proporcionan que un sujeto considerado negativo para IGH maligna puede, en algunas divulgaciones, no tratarse adicionalmente o no recibir adicionalmente una dosis de la terapia que se divulga, o que al sujeto se le administre una dosis más baja o reducida. Por el contrario, se puede divulgar o especificar que un sujeto que presenta MRD a través de secuenciación profunda de IGH se trate adicionalmente, por ejemplo, con la terapia administrada inicialmente a una dosis similar o superior o con un tratamiento adicional. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección persiste después de la administración de la primera dosis y/o la administración de la primera dosis no es suficiente para erradicar la enfermedad o afección en el sujeto.

En algunas divulgaciones, el método reduce la carga de enfermedad o afección, por ejemplo, el número de células tumorales, el tamaño del tumor, la duración de la supervivencia del paciente o la supervivencia sin acontecimientos, en mayor grado y/o durante un período de tiempo mayor en comparación con la reducción que se observaría con un método comparable usando una pauta posológica alternativa, tal como una en la que el sujeto recibe uno o más agentes terapéuticos alternativos y/o una en la que el sujeto no recibe una dosis de células y/o un agente con reducción de linfocitos de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan. En algunas divulgaciones, se detecta, se evalúa o se mide la carga de una enfermedad o afección en el sujeto. La carga de enfermedad puede detectarse en algunas divulgaciones detectando el número total de células de enfermedad o asociadas a enfermedad, por ejemplo, células tumorales, en el sujeto, o en un órgano, tejido o fluido corporal del sujeto, tal como sangre o suero. En algunas divulgaciones, se evalúa la supervivencia del sujeto, supervivencia dentro de un determinado periodo de tiempo, grado de supervivencia, presencia o duración de supervivencia sin acontecimientos o sin síntomas, o supervivencia sin recaídas. En algunas divulgaciones, se evalúa cualquier síntoma de la enfermedad o afección. En algunas divulgaciones, se especifica la medida de carga de enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, la tasa de supervivencia sin acontecimientos o la tasa de supervivencia global del sujeto se mejora mediante los métodos, en comparación con otros métodos, por ejemplo, métodos en los que el sujeto recibe uno o más agentes terapéuticos alternativos y/o uno en el que el sujeto no recibe una dosis de células y/o un agente con reducción de linfocitos de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, la tasa o probabilidad de supervivencia sin acontecimientos para los sujetos tratados mediante los métodos a los 6 meses después de la dosis es mayor de aproximadamente el 40 %, mayor de aproximadamente el 50 %, mayor de aproximadamente el 60 %, mayor de aproximadamente el 70 %, mayor de aproximadamente el 80 %, mayor de aproximadamente el 90 % o mayor de aproximadamente el 95 %. En algunas divulgaciones, la tasa de supervivencia global es mayor de aproximadamente el 40 %, mayor de aproximadamente el 50 %, mayor de aproximadamente el 60 %, mayor de aproximadamente el 70 %, mayor de aproximadamente el 80 %, mayor de aproximadamente el 90 % o mayor de aproximadamente el 95 %. En algunas divulgaciones, el sujeto tratado con los métodos presenta una supervivencia sin acontecimientos, supervivencia sin recaída o supervivencia hasta al menos 6 meses, o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 años. En algunas divulgaciones, se mejora el tiempo de progresión, tal como un tiempo hasta la progresión mayor que exactamente o aproximadamente 6 meses, o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 años.

En algunas divulgaciones, después del tratamiento mediante el método, la probabilidad de recaída se reduce en comparación con otros métodos, por ejemplo, métodos en los que el sujeto recibe uno o más agentes terapéuticos alternativos y/o uno en el que el sujeto no recibe una dosis de células y/o un agente con reducción de linfocitos de acuerdo con los métodos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, la probabilidad de recaída a los 6 meses después de la primera dosis es menos de a aproximadamente el 80 %, menos de aproximadamente el 70 %, menos de aproximadamente el 60 %, menos de aproximadamente el 50 %, menos de aproximadamente el 40 %, menos de aproximadamente el 30 %, menos de aproximadamente el 20 % o menos de aproximadamente el 10 %.

En algunos casos, la farmacocinética de las células administradas, por ejemplo, las células transferidas adoptivamente se determinan para evaluar la disponibilidad, por ejemplo, la biodisponibilidad de las células administradas. Los métodos para determinar la farmacocinética de células transferidas adoptivamente pueden incluir extraer sangre periférica de sujetos a los que se les han administrado células modificadas por ingeniería genética y determinar el número o relación de las células modificadas por ingeniería genética en la sangre periférica. Los enfoques para seleccionar y/o aislar células pueden incluir el uso de anticuerpos específicos de receptor de antígeno quimérico (CAR) (por ejemplo, Brentjens et al., Sci. Transl. Med. Marzo de 2013; 5(177): 177ra38) Protein L (Zheng et al., J. Transl. Med. Febrero de 2012; 10:29), marcadores de epítopos, tales como secuencias Strep-Tag, introducidos directamente en sitios específicos en el CAR, por lo que se usan reactivos de unión para Strep-Tag para evaluar directamente el CAR (Liu et al. (2016) Nature Biotechnology, 34:430; Publicación de Solicitud de Patente Internacional N.º WO2015095895) y anticuerpos monoclonales que se unen específicamente a un polipéptido CAR (véase la Publicación de Solicitud de Patente Internacional N.º WO2014190273). En algunos casos

pueden utilizarse genes marcadores extrínsecos en relación con terapias celulares modificadas por ingeniería genética para permitir la detección o selección de células y, en algunos casos, también para promover el suicidio celular. Un receptor de factor de crecimiento epidérmico truncado (EGFRt, por sus siglas en inglés) en algunos casos puede coexpresarse con un transgén de interés (un CAR o TCR) en células transducidas (véase, por ejemplo, la Patente de los EE.UU. N.º 8.802.374). El EGFRt puede contener un epítopo reconocido por el anticuerpo cetuximab (Erbitux®) u otro anticuerpo anti-EGFR terapéutico o molécula de unión, que puede usarse para identificar o seleccionar células que se han modificado por ingeniería genética con la construcción de EGFRt y otro receptor recombinante, tal como un receptor de antígeno quimérico (CAR), y/o para eliminar o separar las células que expresan el receptor. Véase la Patente de los EE.UU. N.º 8.802.374 y Liu et al., Nature Biotech. Abril de 2016; 34(4): 430-434).

En algunas divulgaciones, el número de linfocitos T CAR^+ en una muestra biológica obtenida del paciente, por ejemplo, sangre, puede determinarse en un período de tiempo después de la administración de la terapia celular, por ejemplo, para determinar la farmacocinética de las células. En algunas divulgaciones, el número de linfocitos T CAR^+, opcionalmente linfocitos T CAR^+ $CD8^+$ y/o linfocitos T CAR^+ $CD4^+$, detectables en la sangre del sujeto, o en la mayoría de los sujetos tratados de este modo mediante el método, es superior a 1 célula por µl, superior a 5 células por µl o superior a 10 células por µl.

D. Toxicidad

En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan se diseñan para o incluyen características que dan como resultado una tasa más baja y/o un grado más bajo de toxicidad, resultado o síntoma tóxico, perfil promotor de toxicidad, factor o propiedad, tal como un síntoma o resultado asociado a o indicativo del síndrome de liberación de citocinas (SLC) o neurotoxicidad (NT), por ejemplo, en comparación con la administración de una terapia celular alternativa, tal como una composición de linfocitos T CAR^+ alternativa y/o una dosificación alternativa de células, por ejemplo, una dosificación de células que no se administra en una relación definida.

En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan no dan como resultado una tasa o probabilidad alta de toxicidad o resultados tóxicos, o reducen la tasa o probabilidad de toxicidad o resultados tóxicos, tales como neurotoxicidad (NT), síndrome de liberación de citocinas (SLC), tal como en comparación con otras terapias celulares determinadas. En algunas divulgaciones, los métodos no dan como resultado, o no aumentan el riesgo de, NT grave (NTg), SLC grave (SLCg), síndrome de activación de macrófagos, síndrome de lisis tumoral, fiebre de al menos o aproximadamente 38 grados Celsius durante tres o más días y un nivel plasmático de CRP (proteína C reactiva, por sus siglas en inglés) de al menos o aproximadamente 20 mg/dl. En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 30 %, 35 %, 40 %, 50 %, 55 %, 60 % o más de los sujetos tratados de acuerdo con los métodos que se divulgan no presentan ningún grado de SLC ni ningún grado de neurotoxicidad. En algunas divulgaciones, no más del 50 % de los sujetos tratados (por ejemplo, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o más de los sujetos tratados) presentan un síndrome de liberación de citocinas (SLC) superior al grado 2 y/o una neurotoxicidad superior al grado 2. En algunas divulgaciones, al menos el 50 % de los sujetos tratados de acuerdo con el método (por ejemplo, al menos el 60 %, al menos el 70 %, al menos el 80 %, al menos el 90 % o más de los sujetos tratados) no presentan un resultado tóxico grave (por ejemplo, SLC grave o neurotoxicidad grave), de manera que no presentan neurotoxicidad de grado 3 o superior y/o no presentan SLC grave, o no lo hacen dentro de un determinado período de tiempo después del tratamiento, tal como a una semana, dos semanas o un mes de la administración de las células. En algunas divulgaciones, los parámetros evaluados para determinar determinadas toxicidades incluyen acontecimientos adversos (AA), toxicidades limitantes de la dosis (TLD), SLC y NT.

La administración de terapia adoptiva de linfocitos T, tal como el tratamiento con linfocitos T que expresan receptores de antígenos quiméricos, puede inducir efectos tóxicos o resultados tales como el síndrome de liberación de citocinas y la neurotoxicidad. En algunas divulgaciones, dichos efectos o resultados son paralelos a niveles altos de citocinas circulantes, que pueden ser subyacentes a la toxicidad observada.

En algunas divulgaciones, el resultado tóxico es o se asocia a o es indicativo del síndrome de liberación de citocinas (SLC) o SLC grave (SLCg). SLC, por ejemplo, SLCg, puede ocurrir en algunos casos después de la terapia adoptiva de linfocitos T y la administración a sujetos de otros productos biológicos. Véase Davila *et al.*, Sci Transl Med 6, 224ra25 (2014); Brentjens *et al.*, *Sci. Transl.* Med. 5, 177ra38 (2013); Grupp *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 368, 1509-1518 (2013); y Kochenderfer et al., Blood 119, 2709-2720 (2012); Xu *et al.*, Cancer Letters 343 (2014) 172-78.

Normalmente, SLC se provoca por una respuesta inmunitaria sistémica exagerada mediada por, por ejemplo, linfocitos T, linfocitos B, linfocitos NK, monocitos y/o macrófagos. Dichas células pueden liberar una gran cantidad de mediadores inflamatorios tales como citocinas y quimiocinas. Las citocinas pueden desencadenar una respuesta inflamatoria aguda y/o inducir daño de órganos endoteliales, lo que puede dar como resultado una fuga microvascular, insuficiencia cardíaca o muerte. El SLC grave potencialmente mortal puede provocar infiltración pulmonar y lesión pulmonar, insuficiencia renal o coagulación intravascular diseminada. Otras toxicidades graves potencialmente mortales pueden incluir toxicidad cardíaca, dificultad respiratoria, toxicidad neurológica y/o insuficiencia hepática. En algunas divulgaciones, fiebre, fiebre especialmente alta (≥ 38,5 °C o ≥ 101,3 °F), está

asociada a SLC o riesgo del mismo. En algunos casos, las características o síntomas del SLC imitan la infección. En algunas divulgaciones, la infección también se considera en sujetos que presentan síntomas de SLC, y se puede administrar seguimiento mediante cultivos y terapia antibiótica empírica. Otros síntomas asociados con el SLC pueden incluir disfunción cardíaca, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, fallo renal y/o hepático, coagulopatías, coagulación intravascular diseminada y síndrome de fuga capilar.

El SLC puede tratarse usando una terapia antiinflamatoria tal como una terapia anti-IL-6, por ejemplo, anticuerpo anti-IL-6, por ejemplo, tocilizumab, o antibióticos u otros agentes como se describe. Los resultados, los signos y los síntomas de SLC se conocen e incluyen aquellos que se describen en el presente documento. En algunas divulgaciones, cuando un régimen de dosificación o administración particular afecte o no afecte un determinado resultado, signo o síntoma asociados al SLC, se pueden especificar resultados, signos y síntomas particulares y/o cantidades o grados de los mismos.

En el contexto de la administración de células que expresan CAR, el SLC normalmente se produce 6-20 días después de la infusión de células que expresan un CAR. Véase Xu *et al.*, Cancer Letters 343 (2014) 172-78. En algunos casos, el SLC se produce menos de 6 días o más de 20 días después de la infusión de linfocitos T CAR. La incidencia y el momento del SLC pueden estar relacionados con la carga tumoral o los niveles de citocinas basales en el momento de la infusión. Habitualmente, el SLC implica niveles séricos elevados de interferón (IPN)-γ, factor de necrosis tumoral (TNF)-α y/o interleucina (IL)-2. Otras citocinas que pueden inducirse rápidamente en el SLC son IL-1β, IL-6, IL-8 y IL-10.

Los resultados de ejemplo asociados a SLC incluyen fiebre, tiritera, escalofríos, hipotensión, disnea, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS, por sus siglas en inglés), encefalopatía, elevación de ALT/AST, insuficiencia renal, trastornos cardíacos, hipoxia, alteraciones neurológicas y muerte. Las complicaciones neurológicas incluyen delirio, actividad similar a una crisis epiléptica, confusión, dificultad para encontrar palabras, afasia y/u obnubilación. Otros resultados relacionados con SLC incluyen fatiga, náuseas, cefalea, crisis epiléptica, taquicardia, mialgias, erupciones, síndrome de fuga vascular aguda, deterioro de la función hepática e insuficiencia renal. En algunas divulgaciones, el SLC se asocia a un aumento de uno o más factores tales como la ferritina sérica, dímero d, aminotransferasas, lactato deshidrogenasa y triglicéridos, o a hipofibrinogenemia o hepatoesplenomegalia. Otros signos o síntomas de ejemplo asociados a SLC incluyen inestabilidad hemodinámica, neutropenia febril, aumento de la proteína C reactiva (CRP), cambios en los parámetros de coagulación (por ejemplo, relación internacional normalizada (INR, por sus siglas en inglés), tiempo de protrombina (PTI, por sus siglas en inglés) y/o fibrinógeno), cambios en la función cardíaca y de otros órganos, y/o recuento absoluto de neutrófilos (ANC, por sus siglas en inglés).

En algunas divulgaciones, los resultados asociados a SLC incluyen uno o más de: fiebre persistente, por ejemplo, fiebre de una temperatura especificada, por ejemplo, superior a exactamente o aproximadamente 38 grados Celsius, durante dos o más, por ejemplo, tres o más, por ejemplo, cuatro o más días o durante al menos tres días consecutivos; fiebre superior a exactamente o aproximadamente 38 grados Celsius; elevación de citocinas, tal como un factor de cambio máximo, por ejemplo, de al menos exactamente o aproximadamente 75, en comparación con los niveles de pretratamiento de al menos dos citocinas (por ejemplo, al menos dos del grupo que consiste en interferón gamma (IFNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, fracktalcina e IL-5, y/o factor de necrosis tumoral alfa (TNFα)), o un factor de cambio máximo, por ejemplo, de al menos exactamente o aproximadamente 250 de al menos una de dichas citocinas; y/o al menos un signo clínico de toxicidad, tal como hipotensión (por ejemplo, medida mediante al menos un vasopresor intravenoso vasoactivo); hipoxia (por ejemplo, niveles de oxígeno en plasma (POz) de menos de exactamente o aproximadamente el 90 %); y/o uno o más trastornos neurológicos (incluyendo cambios en el estado mental, obnubilación y crisis epilépticas). En algunas divulgaciones, La neurotoxicidad (NT) se puede observar al mismo tiempo que el SLC.

Los resultados relacionados con SLC de ejemplo incluyen niveles séricos aumentados o altos de uno o más factores, incluyendo citocinas y quimiocinas y otros factores asociados a SLC. Los resultados de ejemplo incluyen además aumentos en la síntesis o secreción de uno o más de dichos factores. Dicha síntesis o secreción puede ser por el linfocito T o una célula que interactúa con el linfocito T, tal como una célula inmunitaria innata o linfocito B.

En algunas divulgaciones, los factores séricos asociados a SLC o los resultados relacionados con SLC incluyen citocinas y/o quimiocinas inflamatorias, incluyendo interferón gamma (IFN-γ), TNF-a, IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2Ra, factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP)-1, factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), IL-6 y IL-10, IL-1β, IL-8, IL-2, MIP-1, Flt-3L, fracktalcina y/o IL-5. En algunas divulgaciones, el factor o resultado incluye proteína C reactiva (CRP). Además de ser un factor de riesgo precoz y fácilmente medible para SLC, la CRP también es un marcador para la expansión celular. En algunas divulgaciones, los sujetos que se mide que tienen niveles altos de PCR, tales como ≥ 15 mg/dl, tienen SLC. En algunas divulgaciones, los sujetos que se miden que tienen niveles altos de PCR no tienen SLC. En algunas divulgaciones, una medida de SLC incluye una medida de PCR y otro factor indicativo de SLC.

En algunas divulgaciones, se controlan una o más citocinas o quimiocinas inflamatorias antes, durante o después del tratamiento con CAR. En algunas divulgaciones, la una o más citocinas o quimiocinas incluyen IFN-γ, TNF-α, IL-

2, IL-1β, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, sIL-2Rα, factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) o proteína inflamatoria de macrófagos (MIP). En algunas divulgaciones, se controlan IFN-γ, TNF-α e IL-6.

Se han desarrollado criterios de SLC que parecen correlacionarse con la aparición del SLC para predecir qué pacientes tienen más probabilidades de estar en riesgo de desarrollar SLCg (véase Davilla et al. Science translational medicine. 2014;6(224):224ra25). Los factores incluyen fiebres, hipoxia, hipotensión, cambios neurológicos, niveles séricos elevados de citocinas inflamatorias, tales como un conjunto de siete citocinas (IFNγ, IL-5, IL-6, IL-10, Flt-3L, fractalcina y GM-CSF) cuya elevación inducida por el tratamiento puede correlacionarse bien tanto con la carga tumoral anterior al tratamiento como con los síntomas de SLCg. Se conocen otras directrices sobre el diagnóstico y tratamiento de SLC (véase, por ejemplo, Lee et al, *Blood*. 2014;124(2): 188-95). En algunas divulgaciones, los criterios que reflejan el grado de SLC son aquellos detallados en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3: Criterios de clasificación de ejemplo para SLC	
Grado	**Descripción de los síntomas**
1 Leve	No potencialmente mortales, requieren solamente tratamiento sintomático tal como antipiréticos y antieméticos (por ejemplo, fiebre, náuseas, fatiga, cefalea, mialgias, malestar)
2 Moderado	Requieren y responden a una intervención moderada:
	• Requerimiento de oxígeno < 40 %, o
	• Hipotensión que responde a fluidos o dosis bajas de un único vasopresor, o
	• Toxicidad orgánica de grado 2 (según CTCAE v4.0)
3 Grave	Requieren y responden a una intervención agresiva:
	• Requerimiento de oxígeno ≥ 40 %, o
	• Hipotensión que requiere una dosis alta de un único vasopresor (por ejemplo, norepinefrina ≥ 20 µg/kg/min, dopamina ≥ 10 µg/kg/min, fenilefrina ≥ 200 µg/kg/min o epinefrina ≥ 10 µg/kg/min), o
	• Hipotensión que requiere múltiples vasopresores (por ejemplo, vasopresina + uno de los agentes anteriores, o vasopresores combinados equivalentes a ≥ 20 µg/kg/min de norepinefrina), o
	• Toxicidad orgánica de grado 3 o transaminitis de grado 4 (según CTCAE v4.0)
4 Potencialmente mortales	Potencialmente mortales:
	• Requerimiento de soporte con ventilador, o
	• Toxicidad orgánica de grado 4 (excluyendo transaminitis)
5 Mortal	Muerte

En algunas divulgaciones, criterios que reflejan el grado de SLC son aquellos detallados en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4. Criterios de clasificación de ejemplo para SLC				
Síntomas/signos	**Grado 1 (leve)**	**Grado 2 (moderado)**	**Grado 3 (grave)**	**Grado 4 (potencialmente mortal)**
		El grado de SLC se define por el síntoma más grave (excluyendo la fiebre)		
Fiebre > 38,5 °C/101,3 °F	Cualquiera	Cualquiera	Cualquiera	Cualquiera
tensión arterial sistólica ≤ 90 mm de Hg	N/D	Responde a líquido o vasopresor de dosis baja único	Necesita dosis alta o múltiples vasopresores	Potencialmente mortales
Necesidad de oxígeno para alcanzar SaO_2 > 90 %	N/D	FiO2 < 40 %	FiO_2 ≥ 40 %	Necesita soporte ventilatorio
Toxicidad orgánica	N/D	Grado 2	Grado 3 o transaminitis	Grado 4 (excluyendo transaminitis)

En algunas divulgaciones, la terapia vasopresora en dosis altas incluye las descritas en la **Tabla 5** a continuación.

Tabla 5. Vasopresores en dosis altas (todas las dosis requeridas durante ≥ 3 horas)	
Vasopresor	**Dosis**
Monoterapia con norepinefrina	≥ 20 µg/min
Monoterapia con dopamina	≥ 10 µg/kg/min
Monoterapia con fenilefrina	≥ 200 µg/min
Monoterapia con epinefrina	≥ 10 µg/min

(continuación)

Tabla 5. Vasopresores en dosis altas (todas las dosis requeridas durante ≥ 3 horas)	
Vasopresor	**Dosis**
Si toma vasopresina	Vasopresina + equivalente de norepinefrina (NE) de ≥ 10 µg/min[a]
Si toma vasopresores combinados (no vasopresina)	Equivalente de noradrenalina de ≥ 20 µg/min[a]
[a] Ecuación equivalente de vasopresor del ensayo VASST: Dosis equivalente de norepinefrina = [norepinefrina (µg/min)] + [dopamina (µg/kg/min) ÷ 2] + [epinefrina (µg/min)] + [fenilefrina (µg/min) ÷ 10]	

En algunas divulgaciones, el resultado tóxico es un SLC grave. En algunas divulgaciones, el resultado tóxico es la ausencia de SLC grave (por ejemplo, SLC moderado o leve). En algunas divulgaciones, se considera que un sujeto desarrolla "SLC grave" ("SLCg") en respuesta a o secundaria a la administración de una terapia celular o dosis de células de la misma, si, después de la administración, el sujeto muestra: (1) fiebre de al menos 38 grados Celsius durante al menos tres días; (2) elevación de citocinas que incluye (a) un cambio máximo de al menos 75 para al menos dos del siguiente grupo de siete citocinas en comparación con el nivel inmediatamente después de la administración: interferón gamma (IFNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, fracktalkina e IL-5 y/o (b) un cambio máximo de al menos 250 para al menos una del siguiente grupo de siete citocinas en comparación con el nivel inmediatamente después de la administración: interferón gamma (IPNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, fracktalcina y IL-5; y (c) al menos un signo clínico de toxicidad como hipotensión (que requiere al menos un presor vasoactivo intravenoso) o hipoxia (POz < 90 %) o uno o más trastornos neurológicos (incluidos cambios en el estado mental, obnubilación y/o crisis epilépticas). En algunas divulgaciones, el SLC grave incluye SLC con un grado de 3 o superior, tal como se expone en la **Tabla 3** y **Tabla 4.**

En algunas divulgaciones, el nivel del resultado tóxico, p. ej. el resultado relacionado con SLC, p. ej. el nivel sérico de un indicador de SLC, se mide mediante ELISA. En algunas divulgaciones, se puede medir la fiebre y/o los niveles de proteína C reactiva (PCR). En algunas divulgaciones, los sujetos con fiebre y una PCR ≥ 15 mg/dl pueden considerarse de alto riesgo de desarrollar SLC grave. En algunas divulgaciones, los factores séricos asociados a SLC o los resultados relacionados con SLC incluyen un aumento del nivel y/o concentración de citocinas y/o quimiocinas inflamatorias, incluyendo Flt-3L, fracktalkina, factor estimulante de colonias de granulocitos (GM-CSF), interleucina-1 beta (IL-1β), IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, interferón gamma (IFN-γ), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP)-1, MIP-1, sIL-2Rα o factor de necrosis tumoral alfa (TNFα). En algunas divulgaciones, el factor o resultado incluye proteína C reactiva (CRP). Además de ser un factor de riesgo precoz y fácilmente medible para SLC, la CRP también es un marcador para la expansión celular. En algunas divulgaciones, los sujetos que se mide que tienen niveles altos de PCR, tales como ≥ 15 mg/dl, tienen SLC. En algunas divulgaciones, los sujetos que se miden que tienen niveles altos de PCR no tienen SLC. En algunas divulgaciones, una medida de SLC incluye una medida de PCR y otro factor indicativo de SLC.

En algunas divulgaciones, los resultados asociados a SLC grave o SLC de grado 3 o superior, tal como de grado 4 o superior, incluyen uno o más de: fiebre persistente, por ejemplo, fiebre de una temperatura especificada, por ejemplo, superior a exactamente o aproximadamente 38 grados Celsius, durante dos o más, por ejemplo, tres o más, por ejemplo, cuatro o más días o durante al menos tres días consecutivos; fiebre superior a exactamente o aproximadamente 38 grados Celsius; elevación de citocinas, tal como un factor de cambio máximo, por ejemplo, de al menos exactamente o aproximadamente 75, en comparación con los niveles de pretratamiento de al menos dos citocinas (por ejemplo, al menos dos del grupo que consiste en interferón gamma (IFNγ), GM-CSF, IL-6, IL-10, Flt-3L, fracktalcina e IL-5, y/o factor de necrosis tumoral alfa (TNFα)), o un factor de cambio máximo, por ejemplo, de al menos exactamente o aproximadamente 250 de al menos una de dichas citocinas; y/o al menos un signo clínico de toxicidad, tal como hipotensión (por ejemplo, medida mediante al menos un vasopresor intravenoso vasoactivo); hipoxia (por ejemplo, niveles de oxígeno en plasma (POz) de menos de exactamente o aproximadamente el 90 %); y/o uno o más trastornos neurológicos (incluyendo cambios en el estado mental, obnubilación y crisis epilépticas). En algunas divulgaciones, el SLC grave incluye SLC que requiere el manejo o cuidado en la unidad de cuidados intensivos (UCI).

En algunas divulgaciones, el SLC, tal como SLC grave, abarca una combinación de (1) fiebre persistente (fiebre de al menos 38 grados Celsius durante al menos tres días) y (2) un nivel sérico de CRP de al menos exactamente o aproximadamente 20 mg/dl. En algunas divulgaciones, el SLC abarca hipotensión que requiere el uso de dos o más vasopresores o insuficiencia respiratoria que requiere ventilación mecánica. En algunas divulgaciones, la dosificación de vasopresores aumenta en una segunda o posterior administración.

En algunas divulgaciones, el SLC grave o SLC de grado 3 abarca un aumento de la alanina aminotransferasa, un aumento de la aspartato aminotransferasa, escalofríos, neutropenia febril, cefalea, disfunción del ventrículo izquierdo, encefalopatía, hidrocefalia y/o temblor.

Puede especificarse el método de medición o detección de los diversos resultados.

En algunas divulgaciones, el resultado tóxico es o se asocia a neurotoxicidad. En algunas divulgaciones, los

síntomas asociados a un riesgo clínico de neurotoxicidad incluyen confusión, delirios, afasia, afasia expresiva, obnubilación, mioclono, letargia, estado mental alterado, convulsiones, actividad similar a una crisis epiléptica, crisis epilépticas (opcionalmente confirmadas por electroencefalograma (EEG)), niveles elevados de amiloide beta (Aβ), niveles elevados de glutamato y niveles elevados de radicales de oxígeno. En algunas divulgaciones, la neurotoxicidad se clasifica basándose en la gravedad (por ejemplo, usando una escala de Grado 1-5 (véase, por ejemplo, Guido Cavaletti & Paola Marmiroli Nature Reviews Neurology 6, 657-666 (Diciembre de 2010); *National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria version 4.03* (NCI-CTCAE v4.03).

En algunos casos que se divulgan en el presente documento, los síntomas neurológicos pueden ser los primeros síntomas de SLCg. En algunas divulgaciones, se observa que los síntomas neurológicos comienzan de 5 a 7 días después de la infusión de terapia celular. En algunas divulgaciones, la duración de los cambios neurológicos puede variar de 3 a 19 días. En algunos casos, la recuperación de los cambios neurológicos se produce después de que se hayan resuelto otros síntomas de SLCg. En algunas divulgaciones, el tiempo o el grado de resolución de los cambios neurológicos no se acelera por el tratamiento con anti-IL-6 y/o uno o más esteroides.

En algunas divulgaciones, se considera que un sujeto desarrolla "neurotoxicidad grave" en respuesta a o secundaria a la administración de una terapia celular o dosis de células de la misma, si, después de la administración, el sujeto muestra síntomas que limitan el autocuidado (por ejemplo, bañarse, vestirse y desvestirse, alimentarse, usar el baño, tomar medicamentos) de entre: 1) síntomas de neuropatía motora periférica, incluyendo inflamación o degeneración de los nervios motores periféricos; 2) síntomas de neuropatía sensorial periférica, incluyendo inflamación o degeneración de los nervios sensoriales periféricos, disestesia, tal como distorsión de la percepción sensorial, dando como resultado una sensación anormal y desagradable, neuralgia, tal como una sensación dolorosa intensa a lo largo de un nervio o un grupo de nervios, y/o parestesia, tal como alteraciones funcionales de las neuronas sensoriales que dan como resultado sensaciones cutáneas anormales de hormigueo, entumecimiento, presión, frío y calor en ausencia de estímulo. En algunas divulgaciones, la neurotoxicidad grave incluye la neurotoxicidad con un grado de 3 o superior, tal como se expone en la **Tabla 6.**

Tabla 6: Criterios de clasificación de ejemplo para la neurotoxicidad

Grado	**Descripción de los síntomas**
1 Asintomáticos o leves	Síntomas leves o asintomáticos
2 Moderado	Presencia de síntomas que limitan las actividades instrumentales de la vida diaria (ADL, por sus siglas en inglés), tales como preparar comidas, comprar comestibles o ropa, usar el teléfono, administrar dinero
3 Grave	Presencia de síntomas que limitan las AVD de autocuidado, tales como bañarse, vestirse y desvestirse, alimentarse a sí mismo, usar el baño, tomando medicamentos
4 Potencialmente mortales	Síntomas que son potencialmente mortales, que requieren una intervención urgente
5 Mortal	Muerte

En algunas divulgaciones, los métodos reducen los síntomas asociados a SLC o neurotoxicidad en comparación con otros métodos. En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan reducen los síntomas, resultados o factores asociados a SLC, incluyendo síntomas, resultados o factores asociados a SLC grave o SLC de grado 3 o superior, en comparación con otros métodos. Por ejemplo, los sujetos tratados de acuerdo con los presentes métodos pueden carecer de síntomas, resultados o factores detectables y/o reducidos de SLC, por ejemplo, SLC grave o SLC de grado 3 o superior, tales como cualesquiera que se describen, por ejemplo, tal como se expone en la Tabla 3 y Tabla 4. En algunas divulgaciones, los sujetos tratados de acuerdo con los presentes métodos pueden tener síntomas reducidos de neurotoxicidad, tales como debilidad o entumecimiento de las extremidades, pérdida de memoria, visión y/o intelecto, comportamientos obsesivos y/o compulsivos incontrolables, delirio confusional, cefalea, problemas cognitivos y conductuales, incluyendo pérdida del control motor, deterioro cognitivo y disfunción del sistema nervioso autónomo, y disfunción sexual, en comparación con los sujetos tratados mediante otros métodos. En algunas divulgaciones, los sujetos tratados de acuerdo con los presentes métodos pueden tener síntomas reducidos asociados a neuropatía motora periférica, neuropatía sensorial periférica, disestesia, neuralgia o parestesia.

En algunas divulgaciones, los métodos reducen los resultados asociados a la neurotoxicidad, incluyendo los daños del sistema nervioso y/o el cerebro, tales como la muerte de las neuronas. En algunas divulgaciones, los métodos reducen el nivel de factores asociados a la neurotoxicidad tales como amiloide beta (Aβ), glutamato y radicales de oxígeno.

En algunas divulgaciones, el resultado de toxicidad es una toxicidad limitante de la dosis (TLD). En algunas divulgaciones, el resultado tóxico es una toxicidad limitante de la dosis. En algunas divulgaciones, el resultado tóxico

es la ausencia de una toxicidad limitante de la dosis. En algunas divulgaciones, una toxicidad limitante de la dosis (TLD) se define como cualquier toxicidad de grado 3 o superior evaluada mediante cualesquier directrices conocidas o publicadas para evaluar la toxicidad particular, tales como cualesquiera descritas anteriormente e incluyendo los Criterios de Terminología Común para Acontecimientos Adversos (CTCAE) del Instituto Nacional del Cáncer (NCI, por sus siglas en inglés) versión 4.0.

En algunas divulgaciones, la tasa, riesgo o probabilidad bajos de desarrollar una toxicidad, por ejemplo, SLC o neurotoxicidad o SLC o neurotoxicidad graves, por ejemplo, SLC o neurotoxicidad de grado 3 o superior, observados con la administración de una dosis de linfocitos T de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, permiten la administración de la terapia celular de forma ambulatoria. En algunas divulgaciones, la administración de la terapia celular, por ejemplo, la dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR+) de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, se realiza de forma ambulatoria o no requiere la admisión del sujeto en el hospital, tal como la admisión en el hospital que requiere una estancia de una noche.

En algunas divulgaciones, a los sujetos a los que se les administró la terapia celular, por ejemplo, la dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR+) de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, incluyendo los sujetos tratados de forma ambulatoria, no se les administra una intervención para tratar cualquier toxicidad antes de o con la administración de la dosis celular, a menos o hasta que el sujeto presente un signo o síntoma de una toxicidad, tal como una neurotoxicidad o SLC. Se describen agentes de ejemplo para tratar, retrasar, atenuar o mejorar una toxicidad en la Sección II.

En algunas divulgaciones, si un sujeto al que se le administra la terapia celular, por ejemplo, una dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR+), incluyendo los sujetos tratados de forma ambulatoria, presenta fiebre, al sujeto se le administra o recibe instrucciones para recibir o administrar un tratamiento para reducir la fiebre. En algunas divulgaciones, la fiebre en el sujeto se caracteriza como una temperatura corporal del sujeto que está (o se mide) exactamente o por encima de una determinada temperatura o nivel umbral. En algunas divulgaciones, la temperatura umbral es la asociada a al menos una fiebre baja, a al menos fiebre moderada y/o a al menos fiebre alta. En algunas divulgaciones, la temperatura umbral es una temperatura o intervalo particular. Por ejemplo, la temperatura umbral puede ser de exactamente o aproximadamente o al menos exactamente o aproximadamente 38, 39, 40, 41 o 42 grados Celsius, y/o puede estar en un intervalo de exactamente o aproximadamente 38 grados Celsius a exactamente o aproximadamente 39 grados Celsius, un intervalo de exactamente o aproximadamente 39 grados Celsius a exactamente o aproximadamente 40 grados Celsius, un intervalo de exactamente o aproximadamente 40 grados Celsius a exactamente o aproximadamente 41 grados, o un intervalo de exactamente o aproximadamente 41 grados Celsius a exactamente o aproximadamente 42 grados Celsius.

En algunas divulgaciones, el tratamiento diseñado para reducir la fiebre incluye el tratamiento con un antipirético. Un antipirético puede incluir cualquier agente, por ejemplo, compuesto, composición o ingrediente, que reduce la fiebre, tal como uno de cualquier número de agentes conocidos por tener efectos antipiréticos, tales como los AINE (tales como ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno y nimesulida), salicilatos, tales como aspirina, salicilato de colina, salicilato de magnesio y salicilato de sodio, paracetamol, acetaminofeno, Metamizol, Nabumetona, Fenaxona, antipirina, febrífugos. En algunas divulgaciones, el antipirético es acetaminofeno. En algunas divulgaciones, el acetaminofeno puede administrarse a una dosis de 12,5 mg/kg por vía oral o por vía intravenosa hasta cada cuatro horas. En algunas divulgaciones, es o comprende ibuprofeno o aspirina.

En algunas divulgaciones, si la fiebre es una fiebre sostenida, al sujeto se le administra un tratamiento alternativo para tratar la toxicidad, tal como cualquiera que se describe en la Sección II a continuación. Para sujetos tratados de forma ambulatoria, se instruye al sujeto para que regrese al hospital si el sujeto tiene y/o se determina que tiene fiebre sostenida. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene, y/o se determina o se considera que tiene, una fiebre sostenida si él o ella presenta fiebre exactamente o por encima de la temperatura umbral relevante, y donde la fiebre o la temperatura corporal del sujeto no se reduce, o no se reduce en o en más de una cantidad especificada (por ejemplo, en más de 1 °C, y generalmente no fluctúa en aproximadamente, o en más de aproximadamente, 0,5 °C, 0,4 °C, 0,3 °C o 0,2 °C), después de un tratamiento específico, tal como un tratamiento diseñado para reducir la fiebre tal como un tratamiento con un antipirético, por ejemplo, AINE o salicilatos, por ejemplo, ibuprofeno, acetaminofeno o aspirina. Por ejemplo, se considera que un sujeto tiene fiebre sostenida si él o ella presenta o se determina que presenta una fiebre de al menos exactamente o aproximadamente 38 o 39 grados Celsius, que no se reduce en o no se reduce en más de exactamente o aproximadamente 0,5 °C, 0,4 °C, 0,3 °C o 0,2 °C, o en exactamente o aproximadamente el 1 %, 2 %, 3 %, 4 % o 5 %, durante un período de 6 horas, durante un período de 8 horas, o durante un período de 12 horas, o durante un período de 24 horas, incluso después del tratamiento con el antipirético tal como acetaminofeno. En algunas divulgaciones, la dosificación del antipirético es una dosificación habitualmente eficaz en un sujeto para reducir la fiebre o la fiebre de un tipo particular, tal como la fiebre asociada a una infección bacteriana o vírica, por ejemplo, una infección localizada o sistémica.

En algunas divulgaciones, el sujeto tiene, y/o se determina o se considera que tiene, una fiebre sostenida si él o ella presenta fiebre exactamente o por encima de la temperatura umbral relevante, y donde la fiebre o la temperatura corporal del sujeto no fluctúa en aproximadamente, o en más de aproximadamente, 1 °C, y generalmente no fluctúa

en aproximadamente, o en más de aproximadamente, 0,5 °C, 0,4 °C, 0,3 °C o 0,2 °C. Dicha ausencia de fluctuación por encima o en una determinada cantidad generalmente se mide durante un período de tiempo dado (tal como durante un período de tiempo de 24 horas, 12 horas, 8 horas, 6 horas, 3 horas o 1 hora, que puede medirse a partir del primer signo de fiebre o la primera temperatura por encima del umbral indicado). Por ejemplo, en algunas divulgaciones, se considera o se determina que un sujeto presenta fiebre sostenida si él o ella presenta una fiebre de al menos exactamente o aproximadamente o al menos exactamente o aproximadamente 38 o 39 grados Celsius, que no fluctúe en temperatura en más de exactamente o aproximadamente 0,5 °C, 0,4 °C, 0,3 °C o 0,2 °C, durante un período de 6 horas, durante un período de 8 horas, o durante un período de 12 horas, o durante un período de 24 horas.

En algunas divulgaciones, la fiebre es una fiebre sostenida; en algunas divulgaciones, el sujeto se trata en un momento en el que se ha determinado que un sujeto tiene fiebre sostenida, tal como en una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o menos horas de dicha determinación o de la primera determinación de este tipo después de la terapia inicial que tiene el potencial de inducir la toxicidad, tal como la terapia celular, tal como la dosis de los linfocitos T, por ejemplo, linfocitos T CAR$^+$.

En algunas divulgaciones, se administra una o más intervenciones o agentes para tratar la toxicidad, tales como terapias dirigidas a la toxicidad, en un momento en el cual o inmediatamente después del cual se determina o se confirma que el sujeto (tal como se determina o se confirma por primera vez) presenta fiebre sostenida, por ejemplo, como se mide de acuerdo con cualquiera de las divulgaciones mencionadas anteriormente. En algunas divulgaciones, la una o más terapias dirigidas a la toxicidad se administran en un determinado período de tiempo de dicha confirmación o determinación, tal como en 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 6 horas u 8 horas de la misma.

E. Estado de salud y calidad de vida relacionada con la salud

En algunas divulgaciones, los métodos divulgados están diseñados para o incluyen características que dan como resultado un aumento en la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) informada por el sujeto y un efecto sobre el impacto de los síntomas después de la administración de la dosis de linfocitos T CAR+ en comparación con antes de la administración. En algunas divulgaciones, dichas características pueden monitorearse o evaluarse mediante la administración del Cuestionario básico de calidad de vida de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento versión 3.0 (EORTC QLQ-C30) antes de la administración de la dosis de células que expresan CAR (p. ej., al inicio (BL)) y en uno o más momentos diversos posteriores a la administración de las células que expresan CAR, por ejemplo cada dos semanas, cada mes, cada dos meses, cada 3 meses o más. En algunas divulgaciones, las evaluaciones pueden incluir una medida de la fuerza de la preferencia de una persona por un estado de salud específico en relación con estados de salud alternativos. En algunas divulgaciones, el EORTC QLQ-C30 es una medida de calidad de vida aplicable a sujetos con cualquier diagnóstico de cáncer. En algunas divulgaciones, incluye 30 artículos que abordan síntomas físicos generales, funcionamiento físico, fatiga y malestar, y funcionamiento social y emocional. En algunas divulgaciones, las puntuaciones de las subescalas se transforman a una escala de 0 a 100, indicando las puntuaciones más altas en las escalas funcionales una mejor función e indicando las puntuaciones más altas en las escalas de síntomas peores síntomas. En algunas divulgaciones, la escala de utilidad asigna valores numéricos en una escala de 0 (muerte) a 1 (salud óptima o "perfecta"). En algunas divulgaciones, el tiempo pasado en diferentes estados de salud se agrega en años de vida ajustados por calidad.

En algunas divulgaciones, los métodos divulgados están diseñados para, o incluyen características que dan como resultado, aumentos en el bienestar y el estado de salud percibido en los sujetos, como lo determina el EuroQol-5D (EQ-5D), una medida estandarizada del estado de salud desarrollada por el Grupo EuroQoL como una medida simple, genérica de salud para valoración clínica y económica. En algunas divulgaciones, los métodos divulgados están diseñados para, o incluyen características que dan como resultado, aumentos en el bienestar y el estado de salud percibido en los sujetos, como lo determina la puntuación del índice de utilidad de salud y la escala analógica visual [EVA] (EQ-5D-5L). En algunas divulgaciones, el EQ-5D-5L (una medida genérica basada en preferencias), permite estimar la utilidad del estado de salud (Brooks R. Health Policy (1996); 37(1):53-72; The EuroQoL Group. Health Policy (1990); 16(3): 199-208; Pickard AS et al. health Qual Life Outcomes (2007); 5:70) En algunas divulgaciones, el EQ-5D-5L permite estimar la utilidad del estado de salud en una amplia gama de condiciones de salud. En algunas divulgaciones, el EQ-5D-5L incluye un índice de resumen único (es decir, puntuación del índice de estado de salud) y una escala analógica visual global (EQ-EVA). En algunas divulgaciones, la evaluación del estado de salud EQ-5D-5L se compone de 5 dimensiones de salud que incluyen movilidad, cuidados personales, actividades habituales, dolor/malestar y ansiedad/depresión. En algunas divulgaciones, el EQ-5D-5L se califica como un índice resumido único utilizando un valor estadounidense establecido en una escala de -0,109 a 1, con una puntuación de 0 que indica muerte, 1 que indica "plena salud", y puntuaciones negativas que reflejan estados percibidos como peores que la muerte. En algunas divulgaciones, un cambio desde el inicio de ≥0,07 en la puntuación del índice resumido único EQ-5D-5L es un indicador de un cambio clínicamente significativo (Pickard et al. Health Qual Life Outcomes (2007); 5:70).

En algunas divulgaciones, el EQ-EVA está clasificado en una escala de 0-100, donde 0 representa el peor estado de salud imaginable y 100 representa el mejor estado de salud imaginable. En algunas divulgaciones, los sujetos

evalúan su salud el día de la evaluación colocando una X en una escala numerada del 0-100 (Guía del usuario de EQ-5D-5L. https://euroqol.org/wp-content/uploads/2016/09/EQ- 5D-5L_UserGuide_2015.pdf. accecido el 9 de abril, 2019).

En algunas divulgaciones, los sujetos determinan su puntuación. En algunas divulgaciones, el sistema descriptivo comprende dimensiones (movilidad, autocuidado, actividades habituales, dolor/malestar, ansiedad/depresión). En algunas divulgaciones, cada dimensión tiene 5 niveles (sin problemas, problemas leves, problemas moderados, problemas graves, problemas extremos). La escala de calificación EVA es una escala analógica visual vertical de 20 cm con los puntos finales etiquetados como el mejor estado de salud imaginable en la parte superior y el peor estado de salud imaginable en la parte inferior con valores numéricos de 100 y 0 respectivamente. En algunos casos, se pide al participante que indique su estado de salud marcando (o colocando una cruz) en la casilla junto a la afirmación más adecuada en cada una de las 5 dimensiones.

En algunas divulgaciones, los resultados reportados por el paciente (RRP) se pueden utilizar para medir la experiencia de un paciente con su tratamiento. En algunas divulgaciones, los RRP pueden ser proporcionados directamente por el paciente y sin interpretación por parte del personal sanitario. En algunas divulgaciones, las herramientas ejemplares para examinar la CVRS en pacientes que reciben terapia con linfocitos T-CAR incluyen PROMIS, SF-36 y EQ-5D-5L. En algunas de cualquiera de las divulgaciones, EORTC QLQ-C30 y EQ-5D-5L se utilizan para evaluar la calidad de vida relacionada con la salud. En algunas divulgaciones, se examinan los efectos a corto y largo plazo del tratamiento sobre la CVRS del paciente.

En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con las divulgaciones presentan una mejora de 10 puntos o más en el Cuestionario de calidad de vida Core de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento versión 3.0 (EORTC QLQ-C30) en el estado de salud global a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con las divulgaciones presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en el funcionamiento físico a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con las divulgaciones presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en la fatiga a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con las divulgaciones presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en el dolor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas divulgaciones, más de o más de aproximadamente el 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 % o el 60 % de los sujetos tratados de acuerdo con las divulgaciones presentan una mejora de 10 puntos o más en EORTC QLQ-C30 en el dolor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento.

En algunas divulgaciones, la puntuación media de EuroQol-5D (EQ-5D-5L) de 5 niveles entre los sujetos tratados de acuerdo con las divulgaciones es igual o mayor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento. En algunas divulgaciones, la puntuación media de la escala analógica visual global EuroQol (EQ-VAS) entre los sujetos tratados de acuerdo con las divulgaciones es igual o mayor a los 6 meses o a los 12 meses después de la administración en comparación con la puntuación antes del tratamiento o a 1 mes después del tratamiento.

F. Biomarcadores, analitos o parámetros

Entre los métodos que se divulgan existen métodos de evaluación de un riesgo de desarrollar toxicidad asociada a la terapia celular en un sujeto que implica evaluar o detectar biomarcadores (por ejemplo, analitos) o parámetros que se asocian a la toxicidad, por ejemplo, neurotoxicidad, tal como neurotoxicidad y/o SLC grave, tal como SLC grave. También entre los métodos que se divulgan existen métodos de evaluación de la probabilidad de respuesta a una terapia celular en un sujeto que implica evaluar o detectar biomarcadores (por ejemplo, analitos) o parámetros que se asocian a un resultado de respuesta, tal como respuesta objetiva (RO), incluyendo la respuesta completa (RC) y la respuesta parcial (RP). En algunas divulgaciones, el resultado de la respuesta asociada incluye una respuesta duradera, como una respuesta que sea duradera durante 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses o más, después de la respuesta inicial.

En algunas divulgaciones, los métodos implican evaluar o detectar la presencia o ausencia de uno o un panel de biomarcadores (por ejemplo, analitos) y/o parámetros (por ejemplo, concentración, cantidad, nivel o actividad) asociados a uno o un panel de biomarcadores (por ejemplo, analitos). En algunos casos, los métodos pueden incluir comparar el uno o más parámetros con un valor de referencia particular, tal como un nivel umbral (también denominado "valor umbral" en el presente documento), *por ejemplo,* aquellos asociados a un riesgo de desarrollar

toxicidad o aquellos asociados con una respuesta particular, tal como OR, RC o RP o respuesta duradera, como una respuesta que sea duradera durante 3 meses, 6 meses, 9 meses, 12 meses o más, después de la respuesta inicial. En algunas divulgaciones, los métodos también implican seleccionar sujetos para el tratamiento con una terapia celular basándose en la evaluación de la presencia o ausencia del biomarcador y/o la comparación de los biomarcadores con un valor de referencia o nivel umbral del biomarcador. En algunas divulgaciones, los métodos también implican administrar un agente o una terapia que puede tratar, prevenir, retrasar y/o atenuar el desarrollo de la toxicidad, por ejemplo, basándose en la evaluación de la presencia o ausencia del biomarcador y/o la comparación de los biomarcadores con un valor de referencia o nivel umbral del biomarcador.

En algunas divulgaciones, los métodos implican evaluar la probabilidad de respuesta del sujeto o el riesgo de desarrollo de una toxicidad, después de la administración de una terapia celular. En algunas divulgaciones, los métodos implican evaluar el nivel, cantidad o concentración de uno o más analitos en una muestra biológica, en donde la muestra biológica es de un sujeto que es candidato para el tratamiento con la terapia celular, comprendiendo opcionalmente dicha terapia celular una dosis o composición de células modificadas genéticamente que expresan un receptor recombinante; y la muestra biológica se obtiene del sujeto antes de administrar la terapia celular y/o dicha muestra biológica no comprende el receptor recombinante y/o dichas células modificadas por ingeniería genética. En algunas divulgaciones, los métodos implican comparar, individualmente, el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra con un nivel umbral, determinando de este modo un riesgo de desarrollar una toxicidad después de la administración de la terapia celular. En algunas divulgaciones, las comparaciones pueden usarse para determinar la probabilidad de respuesta del sujeto o el riesgo de desarrollo de una toxicidad, después de la administración de una terapia celular.

En algunas divulgaciones, los métodos también implican seleccionar sujetos para el tratamiento con una terapia celular, tal como una dosis particular de terapia celular, incluyendo la administración de una dosis particular de terapia celular tal como las descritas en el presente documento, por ejemplo, en la Sección I.A y I.B, basándose en la evaluación de la presencia o ausencia del biomarcador y/o la comparación de los biomarcadores con un valor de referencia o nivel umbral del biomarcador. En algunas divulgaciones, los métodos también implican seleccionar sujetos para el tratamiento con un agente adicional, tal como un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad, basándose en la evaluación de la presencia o ausencia del biomarcador y/o la comparación de los biomarcadores con un valor de referencia o nivel umbral del biomarcador.

En algunas divulgaciones, el parámetro es o incluye atributos, factores, característica del paciente y/o de la enfermedad o afección. En algunas divulgaciones, el parámetro es un parámetro relacionado con la carga tumoral, por ejemplo, una medición de la carga tumoral. En algunas divulgaciones, los métodos también implican monitorear además al sujeto para determinar posibles síntomas de toxicidad basándose en el riesgo de toxicidad determinado mediante la evaluación de la presencia o ausencia del biomarcador y/o la comparación de los biomarcadores con un valor de referencia o nivel umbral del biomarcador. En algunas divulgaciones, una muestra biológica, por ejemplo, muestra de sangre o muestra de tejido del sujeto, se puede obtener para detectar la presencia o ausencia de un biomarcador (por ejemplo, analito), como para detectar o medir un parámetro (*p. ej.* concentración, cantidad, nivel o actividad) del biomarcador y/o evaluar la presencia de un biomarcador, para análisis, correlación y/o detección de resultados y/o toxicidades particulares. En algunas divulgaciones, determinados parámetros fisiológicos o biológicos asociados a un biomarcador, incluyendo la expresión de biomarcadores y/o parámetros clínicos y de laboratorio, pueden evaluarse, a partir de una muestra biológica, por ejemplo, sangre, de sujetos antes o después de la administración de una terapia celular. En algunas divulgaciones, biomarcadores o analitos de expresión y/o parámetros clínicos y de laboratorio, pueden evaluarse a partir de una muestra biológica, por ejemplo, sangre, de los sujetos antes de la administración de la terapia celular (pretratamiento). En algunas divulgaciones, biomarcadores o analitos de expresión y/o parámetros clínicos y de laboratorio, pueden evaluarse a partir de una muestra biológica, por ejemplo, sangre, de sujetos después de la administración de la terapia celular (post-tratamiento). En algunas divulgaciones, la concentración, cantidad, nivel o actividad de biomarcadores (por ejemplo, analitos) y/o parámetros clínicos y de laboratorio se pueden evaluar en uno o más puntos de tiempo antes o después de la administración de la terapia celular. En algunas divulgaciones, la concentración máxima, cantidad, nivel o actividad de biomarcadores (por ejemplo, analitos) y/o parámetros clínicos y de laboratorio se pueden determinar durante un período de tiempo específicado.

En algunas divulgaciones, un biomarcador o un analito es una característica objetivamente medible o una molécula expresada por o en una muestra biológica, incluyendo células, que puede ser indicativo o estar asociado a un estado o fenómeno en particular, tal como un proceso biológico, un resultado terapéutico, un fenotipo celular o un estado de enfermedad. En algunas divulgaciones, se pueden medir o detectar un biomarcador o un analito o parámetros asociados a un biomarcador o un analito. Por ejemplo, puede detectarse la presencia o ausencia de expresión de un biomarcador o analito. En algunas divulgaciones, los parámetros tal como concentración, cantidad, nivel o actividad del biomarcador o analito se pueden medir o detectar. En algunas divulgaciones, la presencia, ausencia, expresión, concentración, cantidad, nivel y/o actividad del biomarcador pueden estar asociados a, correlacionados con, pueden ser indicativos y/o predictivos de estados particulares, tal como resultados terapéuticos particulares o el estado del sujeto. En algunas divulgaciones, la presencia, ausencia, expresión, concentración, cantidad, nivel y/o actividad del biomarcador o analito, tal como cualquiera descrita en el presente documento, se puede utilizar para evaluar la

probabilidad de un resultado o estado particular, tal como un resultado terapéutico particular, incluido el resultado de la respuesta o el resultado de la toxicidad. En algunas divulgaciones, los biomarcadores a modo de ejemplo incluyen citocinas, moléculas de superficie celular, quimiocinas, receptores, receptores solubles, proteínas séricas solubles y/o productos de degradación. En algunas divulgaciones, los biomarcadores o analitos también pueden incluir atributos particulares, factores, característica del paciente y/o la enfermedad o afección o factores indicativos del estado del paciente y/o la enfermedad o afección del paciente (incluyendo la carga de enfermedad) y/o parámetros clínicos o de laboratorio.

En algunas divulgaciones, los biomarcadores pueden usarse de manera única o en combinación con otros biomarcadores, tal como en un panel de biomarcadores. En algunas divulgaciones, la expresión de biomarcadores particulares puede correlacionarse con resultados o toxicidades particulares, por ejemplo, desarrollo de neurotoxicidad. En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, que se pueden evaluar incluyen la lactato deshidrogenasa (LDH), ferritina, proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), interferón alfa 2 (IFN-α2), proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (MIP-1α), proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta (MIP-1β), eotaxina, factor estimulante de las colonias de granulocitos (G-CSF), receptor de IL-1 alfa (IL-1Rα), IL-1β, proteína 10 inducible por IPN-γ (IP-10), perforina y dímero D (producto de degradación de fibrina). En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluyen LDH,, ferritina, PCR, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 y MIP-1β. En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluye ferritina, PCR, dímero D, IL-6, IL-15, TNF-α y MIP-1α. En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluye ferritina, PCR, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α o MIP-1β.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen detectar la presencia o ausencia de uno o más biomarcadores, tal como un parámetro (*p. ej.* concentración, cantidad, nivel o actividad) asociado a uno o más biomarcadores, en el que uno o más biomarcadores se seleccionan entre Lactato deshidrogenasa (LDH), ferritina, proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), interferón alfa 2 (IFN-α2), proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (MIP-1α), proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta (MIP-1β), eotaxina, factor estimulante de las colonias de granulocitos (G-CSF), receptor de IL-1 alfa (IL-1Rα), IL-1β, proteína 10 inducible por IFN-γ (IP-10), perforina y dímero D (producto de degradación de fibrina).

En algunas divulgaciones, el parámetro que se evalúa es o incluye atributos, factores, característica del paciente y/o de la enfermedad o afección, y/o expresión de biomarcadores. En algunas divulgaciones, el parámetro es o incluye uno o más factores indicativos del estado del paciente y/o de la enfermedad o afección del paciente. En algunas divulgaciones, el parámetro es indicativo de la carga tumoral. En algunas divulgaciones, el factor indicativo de la carga tumoral es una medida volumétrica del (de los) tumor(es). En algunas divulgaciones, la medida volumétrica es una medida de la(s) lesión (lesiones), tal como el tamaño del tumor, diámetro del tumor, volumen tumoral, masa tumoral, carga tumoral o volumen, edema relacionado con el tumor, necrosis relacionada con el tumor y/o número o extensión de las metástasis. En algunas divulgaciones, la medida volumétrica del tumor es una medida bidimensional. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el área de la(s) lesión (lesiones) se calcula como el producto del diámetro más largo y el diámetro perpendicular más largo de todos los tumores medibles. En algunos casos, la medida volumétrica del tumor es una medida unidimensional. En algunos casos, el tamaño de las lesiones medibles se evalúa como el diámetro más largo. En algunas divulgaciones, se mide la suma de los productos de diámetros (SPD), diámetros tumorales más largos (LD), suma de los diámetros tumorales más largos (SLD), necrosis, volumen tumoral, volumen de necrosis, relación necrosis-tumor (NTR), edema peritumoral (PTE) y la relación edema-tumor (ETR).

Los métodos a modo de ejemplo para medir y evaluar la carga tumoral incluyen los descritos en, por ejemplo, Carceller et al., Pediatr Blood Cancer. (2016) 63(8): 1400-1406 y Eisenhauer et al., *Eur J Cancer.* (2009) 45(2):228-247. En algunas divulgaciones, la medida volumétrica es una suma de los productos de diámetros (SPD) medidos determinando la suma de los productos de los diámetros perpendiculares más grandes de todos los tumores medibles. En algunas divulgaciones, el tumor o la lesión se miden en una dimensión con el diámetro más largo (LD) y/o determinando la suma de los diámetros tumorales más largos (SLD) de todas las lesiones medibles. En algunas divulgaciones, la medida volumétrica del tumor es una cuantificación volumétrica de la necrosis tumoral, como el volumen de necrosis y/o la relación necrosis-tumor (NTR), véase Monsky et al., Anticancer Res. (2012) 32(11): 4951-4961. En algunas divulgaciones, la medida volumétrica del tumor es una cuantificación volumétrica del edema relacionado con el tumor, tal como edema peritumoral (PTE) y/o relación edema-tumor (ETR). En algunas divulgaciones, la medición se puede realizar mediante técnicas de obtención de imágenes como la tomografía computarizada (TAC), tomografía de emisión de positrones (TEP) y/o la obtención de imágenes por resonancia magnética (IRM) del sujeto.

En algunas divulgaciones, la medida volumétrica del tumor se determina en una sesión de detección, tal como una evaluación de rutina o extracción de sangre para confirmar y/o identificar la afección o enfermedad en el sujeto.

En algunas divulgaciones, la presencia o ausencia y/o un parámetro de uno o más biomarcadores (por ejemplo,

analitos) se evalúa a partir de una muestra biológica. En algunas divulgaciones, la muestra biológica es un fluido corporal o un tejido. En algunas de dichas divulgaciones, la muestra biológica, por ejemplo, fluido corporal, es o contiene sangre entera, suero o plasma.

En algunas divulgaciones, la presencia o ausencia y/o un parámetro de uno o más biomarcadores (por ejemplo, analitos) se evalúa antes de la administración de la terapia celular (por ejemplo, preinfusión), por ejemplo, obtenida hasta 2 días, hasta 7 días, hasta 14 días, hasta 21 días, hasta 28 días, hasta 35 días o hasta 40 días antes del inicio de la administración de las células modificadas por ingeniería genética. En algunas divulgaciones, la muestra biológica se obtiene del sujeto antes de la administración de la terapia celular (por ejemplo, preinfusión), por ejemplo, obtenida hasta 2 días, hasta 7 días, hasta 14 días, hasta 21 días, hasta 28 días, hasta 35 días o hasta 40 días antes del inicio de la administración de las células modificadas por ingeniería genética.

En algunas divulgaciones, la muestra biológica es una muestra de aféresis o leucocitaféresis. En algunas divulgaciones, se evalúa la ausencia y/o un parámetro de uno o más biomarcadores (por ejemplo, analitos) o se obtiene la muestra biológica después de la administración de la terapia celular. En algunas divulgaciones, los reactivos pueden usarse antes de la administración de la terapia celular o después de la administración de la terapia celular, con fines diagnósticos, para identificar sujetos y/o para evaluar resultados de tratamiento y/o toxicidades.

En algunas divulgaciones, medir el valor de uno o más biomarcadores comprende realizar un ensayo *in vitro*. En algunas divulgaciones, el ensayo *in vitro* es un inmunoensayo, un ensayo basado en aptámeros, un ensayo histológico o citológico, o un ensayo de nivel de expresión de ARNm. En algunas divulgaciones, los valores del uno o más biomarcadores se miden mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunotransferencia, inmunoprecipitación, radioinmunoensayo (RIA), inmunotinción, un ensayo de citometría de flujo, resonancia de plasmón superficial (SPR), un ensayo de quimioluminiscencia, un inmunoensayo de flujo lateral, un ensayo de inhibición y un ensayo de avidez. En algunos casos, el valor de al menos uno de uno o más biomarcadores se determina usando un reactivo de unión que se une específicamente a al menos un biomarcador. En algunas divulgaciones, el reactivo de unión es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un aptámero o una sonda de ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, medir el valor del uno o más biomarcadores (*p. ej.,* analitos) comprende poner en contacto un reactivo capaz de detectar directa o indirectamente el analito con la muestra biológica y determinar la presencia o ausencia, nivel, la cantidad o la concentración del analito en la muestra biológica. En algunas divulgaciones, el uno o más biomarcadores (por ejemplo, analito) es lactato deshidrogenasa (LDH), ferritina, PCR, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-alfa, IFN-gamma, MCP-1, MIP-1beta, eotaxina, G-CSF, IL-1Ralfa, IL-1Rbeta, IP-10, perforina y dímero D (producto de degradación de la fibrina). En algunas divulgaciones, el uno o más biomarcadores (por ejemplo, analito) es LDH, ferritina, PCR, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-alfa, IFN-alfa2, MCP-1 y MIP-1beta. En algunas divulgaciones, el uno o más biomarcadores (por ejemplo, analito) es o incluye LDH.

En algunas divulgaciones, el reactivo es una molécula de unión que se une específicamente al analito. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el reactivo es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas divulgaciones, el reactivo es o incluye un sustrato o compañero de unión del analito.

En algunas divulgaciones, la presencia, ausencia o parámetro (por ejemplo, nivel, cantidad, concentración y/u otra medida) de LDH se detecta o determina en una muestra. Se conocen diversos métodos para detectar o determinar la LDH. Por ejemplo, un ensayo que mide la conversión de LDH de lactato a piruvato a través de reducción de NAD^+ a NADH se puede utilizar para detectar LDH en la muestra. En algunas divulgaciones, la muestra se pone en contacto con lactato en presencia de coenzima NAD que, como medida de LDH en la muestra, da como resultado NADH que luego se oxida en presencia de un agente de transferencia de electrones. En algunas divulgaciones, el NADH interactúa con una sonda o precursor de colorante que es detectable midiendo la absorción en un intervalo de luz visible. En algunas divulgaciones, la diaforasa utiliza el NADH para reducir la sal de tetrazolio (INT) a un producto de formazán rojo y se mide el producto. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, la cantidad de producto coloreado formado es directamente proporcional a la actividad de LDH en la muestra.

En algunas divulgaciones, los métodos implican comparar, individualmente, el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra con un nivel umbral, determinando así un riesgo de desarrollar toxicidad después de la administración de la terapia celular, o determinando así una probabilidad de que un sujeto consiga una respuesta a la terapia celular. En algunas divulgaciones, los niveles de umbral a modo de ejemplo pueden determinarse basándose en los valores medios o medianos y los valores dentro de un intervalo o desviación estándar de los valores medios o medianos del nivel, cantidad o concentración del analito en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo pasó a mostrar un resultado particular, tal como un resultado terapéutico particular, incluyendo mostrar una respuesta o no mostrar una respuesta; o desarrollar una toxicidad o no desarrollar una toxicidad. En algunas divulgaciones, las divulgaciones particulares sobre la determinación de valores umbral incluyen las que se describen a continuación en las Secciones I.E. 1 y I.E.2.

1. Biomarcadores, analitos o parámetros a modo de ejemplo asociados a los resultados de respuesta

En algunas divulgaciones, el analito o biomarcador está asociado a, correlacionado con, es indicativo y/o predictivo de un resultado particular, tal como un resultado de respuesta particular, tal como una respuesta objetiva (RO), una respuesta completa (RC) o una respuesta parcial (RP) o respuesta duradera, como una RO, una RC o una RP que sea duradero a los 3, 6, 9 meses o más. En algunas divulgaciones, niveles más bajos o reducidos o niveles aumentados de uno o más de tales biomarcadores (por ejemplo, analitos), tal como en comparación con un valor de referencia o un nivel umbral, pueden asociarse a la una respuesta, tal como una RO, una RC o una RP o cualquier resultado de respuesta descrito en el presente documento, por ejemplo, en la Sección I.C, opcionalmente una respuesta duradera, como una respuesta que sea duradera durante al menos 3 meses, 6 meses o más.

En algunas divulgaciones, el analito o biomarcador está asociado a, correlacionado con, es indicativo y/o predictivo de un resultado particular, tal como una respuesta particular o un resultado de respuesta duradera, en un sujeto al que se le ha administrado una terapia celular, tal como con una composición que contiene células modificadas por ingeniería genética. En algunas divulgaciones, la presencia, expresión, nivel, cantidad o concentración de uno o más analitos en una muestra biológica obtenida de un sujeto antes de la administración de terapia celular, pueden estar asociados a, correlacionados con, pueden ser indicativos y/o predictivos de un resultado particular, tal como una respuesta particular o un resultado de respuesta duradera. En algunas divulgaciones, la presencia, expresión, nivel, cantidad o concentración de biomarcadores particulares se pueden correlacionar con una respuesta particular o un resultado de respuesta duradera. En algunas divulgaciones, el resultado de respuesta puede ser cualquier resultado de respuesta descrito en el presente documento, por ejemplo, en la Sección I.C.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen comparar, individualmente, el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra con un nivel umbral, determinando así la probabilidad de que un sujeto consiga una respuesta a la terapia celular. En algunas divulgaciones, los métodos incluyen seleccionar un sujeto que probablemente responda al tratamiento basándose en los resultados de determinar la probabilidad de que un sujeto consiga una respuesta a la terapia celular comparando, individualmente, el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra con un nivel umbral. En algunas divulgaciones, los métodos también incluyen administrar la terapia celular al sujeto seleccionado para el tratamiento. En algunas divulgaciones, si se determina que no es probable que el sujeto consiga una respuesta o una respuesta duradera, que comprende además administrar un agente terapéutico adicional al sujeto.

En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos) incluyen aquellos asociados a un resultado de respuesta y/o una respuesta duradera. En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluyen LDH,, ferritina, PCR, dímero D, amiloide A1 sérico (SAA-1), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α y quimiocina 10 motivo C-X-C (CXCL10).

En algunas divulgaciones, los analitos o biomarcadores a modo de ejemplo que pueden evaluarse o analizarse con respecto a la evaluación de la probabilidad de respuesta después de la administración de una terapia celular incluyen uno o más analitos seleccionados de ferritina, LDH, CXCL10, G-CSF y IL-10. En algunas divulgaciones, para cualquiera de los analitos anteriores o biomarcadores, es probable que el sujeto consiga una respuesta si el nivel, cantidad o concentración del uno o más analitos está por debajo de un nivel umbral y no es probable que el sujeto consiga una respuesta si el nivel, cantidad o concentración del uno o más analitos está por encima de un nivel umbral. En algunas divulgaciones, la respuesta es o comprende una respuesta objetiva. En algunas divulgaciones, la respuesta objetiva es o comprende una respuesta completa (RC) o una respuesta parcial (RP). En algunas divulgaciones, los niveles reducidos de ferritina, LDH, CXCL10, G-CSF y IL-10, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a la obtención de una respuesta objetiva, incluida una respuesta completa (RC) o una respuesta parcial (RP).

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por debajo del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de ferritina, LDH, CXCL10, G-CSF o IL-10 en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo consiguió una respuesta después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección. En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por encima del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de ferritina, LDH, CXCL10, G-CSF o IL-10 en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo pasó a presentar un cáncer estable (CE) y/o una progresión de la enfermedad (PE) después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, los analitos o biomarcadores a modo de ejemplo que pueden evaluarse o analizarse con respecto a la evaluación de la probabilidad de respuesta duradera después de la administración de una terapia celular incluyen uno o más analitos seleccionados de LDH, ferritina, PCR, dímero D, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 y MIP-1β. En algunas divulgaciones, para cualquiera de los analitos anteriores o biomarcadores, es probable que el sujeto consiga una respuesta duradera si el nivel, cantidad o

concentración del uno o más analitos está por debajo de un nivel umbral y no es probable que el sujeto consiga una respuesta duradera si el nivel, cantidad o concentración del uno o más analitos está por encima de un nivel umbral. En algunas divulgaciones, la respuesta duradera es o comprende una respuesta completa (RC) o una respuesta parcial (RP) que es duradera durante exactamente o más de 3 meses, 4 meses, 5 meses o 6 meses. En algunas divulgaciones, la respuesta duradera es o comprende una RC o una RP que sea duradera durante al menos 3 meses. En algunas divulgaciones, los niveles reducidos de LDH, ferritina, PCR, dímero D, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 y MIP-1β, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a la obtención de una respuesta duradera, como una RC o una RP que sea duradera durante al menos 3 meses.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por debajo del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de LDH, ferritina, PCR, dímero D, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 o MIP-1β en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo consiguió una respuesta duradera después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por encima del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de LDH, ferritina, PCR, dímero D, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, CXCL-10, IL-8, MCP-1 o MIP-1β en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo no consiguió una respuesta duradera después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, la respuesta es una respuesta duradera, como una RC o una RP que sea duradera durante al menos 3 meses.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral para LDH está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 600 U/l, 500 U/l, 400 U/l, 300 U/l o 200 U/l.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para ferritina está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 1000 µg/l, 900 µg/l, 800 µg/l, 700 µg/l, 600 µg/l, 500 µg/l, 400 µg/l, 300 µg/l o 200 µg/l.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para PCR está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 20 mg/l, 19 mg/l, 18 mg/l, 17 mg/l, 16 mg/l, 15 mg/l, 14 mg/l, 13 mg/l, 12 mg/l, 11 mg/l, 10 mg/l, 9 mg/l, 8 mg/l, 7 mg/l, 6 mg/l o 5 mg/l.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para dímero D está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 1000 µg/l, 900 µg/l, 800 µg/l, 700 µg/l, 600 µg/l, 500 µg/l, 400 µg/l, 300 µg/l o 200 µg/l.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para SAA-1 está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 100 mg/l, 90 mg/l, 80 mg/l, 70 mg/l, 60 mg/l, 50 mg/l, 40 mg/l, 30 mg/l o 20 mg/l.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-6 está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 6 pg/ml, 5 pg/ml, 4 pg/ml, 3 pg/ml o 2 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-10 está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 2 pg/ml, 1 pg/ml, 0,9 pg/ml, 0,8 pg/ml, 0,7 pg/ml, 0,6 pg/ml o 0,5 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-15 está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 7 pg/ml, 6 pg/ml, 5 pg/ml, 4 pg/ml o 3 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-16 está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 1000 pg/ml, 900 pg/ml, 800 pg/ml, 700 pg/ml o 600 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para TNF-α está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 10 pg/ml, 9 pg/ml, 8 pg/ml, 7 pg/ml o 6 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IFN-γ está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 30 pg/ml, 20 pg/ml, 10 pg/ml, 9 pg/ml, 8 pg/ml o 7 pg/ml;

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para MIP-1α está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 40 pg/ml, 30 pg/ml o 20 pg/ml; y/o

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para CXCL-10 está en o en aproximadamente o por debajo o por debajo aproximadamente de 1500 pg/ml, 1000 pg/ml, 900 pg/ml, 800 pg/ml, 700 pg/ml, 600 pg/ml o 500 pg/ml.

En algunas divulgaciones, los analitos o biomarcadores a modo de ejemplo que pueden evaluarse o analizarse con respecto a la evaluación de la probabilidad de respuesta duradera después de la administración de una terapia celular incluyen uno o más analitos seleccionados de ferritina, PCR, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β y TNF-α. En algunas divulgaciones, para cualquiera de los analitos anteriores o biomarcadores, es probable que el sujeto consiga una respuesta duradera si el nivel, cantidad o concentración del uno o más analitos está por debajo de un nivel umbral y no es probable que el sujeto consiga una respuesta duradera si el nivel, cantidad o concentración del uno o más analitos está por encima de un nivel umbral. En algunas divulgaciones, la respuesta duradera es o comprende una respuesta completa (RC) o una respuesta parcial (RP) que es duradera durante exactamente o más de 3 meses, 4 meses, 5 meses o 6 meses. En algunas divulgaciones, la respuesta duradera es o comprende una RC o una RP que sea duradera durante al menos 3 meses. En algunas divulgaciones, los niveles reducidos de ferritina, PCR, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β y TNF-α, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a la obtención de una respuesta duradera, como una RC o una RP que sea duradera durante al menos 3 meses.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por debajo del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de ferritina, PCR, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β o TNF-α en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo consiguió una respuesta duradera después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por encima del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de ferritina, PCR, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β o TNF-α en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo no consiguió una respuesta duradera después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, los analitos o biomarcadores a modo de ejemplo que pueden evaluarse o analizarse con respecto a la evaluación de la probabilidad de respuesta duradera después de la administración de una terapia celular incluyen uno o más analitos seleccionados de hemoglobina y albúmina. En algunas divulgaciones, para cualquiera de los analitos anteriores o biomarcadores, es probable que el sujeto consiga una respuesta duradera si el nivel, cantidad o concentración del uno o más analitos está por encima de un nivel umbral y no es probable que el sujeto consiga una respuesta duradera si el nivel, cantidad o concentración del uno o más de los analitos está por debajo de un nivel umbral. En algunas divulgaciones, la respuesta duradera es o comprende una respuesta completa (RC) o una respuesta parcial (RP) que es duradera durante exactamente o más de 3 meses, 4 meses, 5 meses o 6 meses. En algunas divulgaciones, la respuesta duradera es o comprende una RC o una RP que sea duradera durante al menos 3 meses. En algunas divulgaciones, los niveles elevados de hemoglobina y albúmina, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a la obtención de una respuesta duradera, como una RC o una RP que sea duradera durante al menos 3 meses.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por encima del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de hemoglobina y albúmina en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo consiguió una respuesta duradera después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por debajo del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de hemoglobina y albúmina en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo no consiguió una respuesta duradera después de la administración de una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

2. Biomarcadores, analitos o parámetros a modo de ejemplo asociados a los resultados de toxicidad

En algunas divulgaciones, el analito o biomarcador está asociado a, correlacionado con, es indicativo y/o predictivo

de un resultado particular, tal como el desarrollo de una toxicidad, en un sujeto al que se le ha administrado una terapia celular, tal como con una composición que contiene células modificadas por ingeniería genética. En algunas divulgaciones, la presencia, expresión, nivel, cantidad o concentración de uno o más analitos en una muestra biológica obtenida de un sujeto antes de la administración de terapia celular, pueden estar asociados a, correlacionados con, pueden ser indicativos y/o predictivos de un resultado particular, tal como el desarrollo de una toxicidad, tal como cualquier resultado de toxicidad descrito en el presente documento, por ejemplo, en la Sección I.D. En algunas divulgaciones, la presencia, expresión, nivel, cantidad o concentración de biomarcadores particulares puede correlacionarse con resultados o toxicidades particulares, por ejemplo, desarrollo de NT o SLC. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una toxicidad potencialmente asociada a la terapia celular, tal como cualquiera descrita en el presente documento, por ejemplo, en la Sección I.D. En algunas divulgaciones, la toxicidad es neurotoxicidad (NT) o síndrome de liberación de citocinas (SLC). En algunas divulgaciones, la toxicidad es una NT grave o un SLC grave. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una NT de grado 2 o superior o SLC de grado 2 o superior. En algunas divulgaciones, la toxicidad es un NT de grado 3 o superior o un SLC de grado 3 o superior.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen comparar, individualmente, el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra con un nivel umbral, determinando de este modo un riesgo de desarrollar una toxicidad después de la administración de la terapia celular. En algunas divulgaciones, los métodos incluyen identificar un sujeto que tiene riesgo de desarrollar una toxicidad después de la administración de una terapia celular comparando, individualmente, el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra con un nivel umbral. En algunas divulgaciones, los métodos también incluyen siguiendo o basándose en los resultados de la evaluación, administrar al sujeto la terapia celular y, opcionalmente, un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad. En algunas divulgaciones, los métodos también implican monitorear al sujeto para detectar síntomas de toxicidad si al sujeto se le administra una terapia celular y se identifica que tiene riesgo de desarrollar una toxicidad.

En algunas divulgaciones, si se identifica que el sujeto tiene riesgo de desarrollar una toxicidad, se pueden realizar uno o más de los siguientes pasos, puede administrarse al sujeto: (a) (1) un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad y (2) la terapia celular, en donde la administración del agente ha de administrarse (i) antes de, (ii) en uno, dos o tres días de, (iii) simultáneamente con y/o (iv) en la primera fiebre después de, el inicio de la administración de la terapia celular al sujeto; y/o (b) administrar al sujeto una terapia celular a una dosis reducida o a una dosis que no se asocia al riesgo de desarrollar toxicidad o toxicidad grave, o no se asocia al riesgo de desarrollar una toxicidad o toxicidad grave en la mayoría de los sujetos, y/o una mayoría de sujetos que tienen una enfermedad o condición que el sujeto tiene o se sospecha que tiene, después de la administración de la terapia celular; y/o (c) administrar al sujeto una terapia celular en un entorno hospitalario y/o con admisión en el hospital durante uno o más días, opcionalmente en donde la terapia celular se ha de administrar de otro modo a los sujetos de forma ambulatoria o sin admisión en el hospital durante uno o más días.

En algunas divulgaciones, biomarcadores o analitos, incluidos parámetros de los mismos, que se pueden evaluar incluyen la lactato deshidrogenasa (LDH), ferritina, proteína C reactiva (PCR), interleucina-6 (IL-6), IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), interferón alfa 2 (IFN-α2), proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa (MIP-1α), proteína inflamatoria de macrófagos 1 beta (MIP-1β), eotaxina, factor estimulante de las colonias de granulocitos (G-CSF), receptor de IL-1 alfa (IL-1Rα), IL-1β, proteína 10 inducible por IPN-γ (IP-10), perforina y dímero D (producto de degradación de fibrina). En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluyen LDH,, ferritina, PCR, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 y MIP-1β. En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluye ferritina, PCR, dímero D, IL-6, IL-15, TNF-α y MIP-1α. En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluye ferritina, PCR, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α o MIP-1β. En algunas divulgaciones, niveles elevados o niveles aumentados del uno o más de tales biomarcadores (por ejemplo, biomarcadores), tal como en comparación con un valor de referencia o un nivel umbral, pueden asociarse al desarrollo de neurotoxicidad, p. ej. neurotoxicidad grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior o de grado 4 o 5. En algunas divulgaciones, niveles elevados o niveles aumentados del uno o más de tales biomarcadores (por ejemplo, analitos), tal como en comparación con un valor de referencia o un nivel umbral, pueden asociarse al desarrollo de neurotoxicidad, p. ej. neurotoxicidad grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior o de grado 4 o 5.

En algunas divulgaciones, analitos o biomarcadores a modo de ejemplo que pueden evaluarse o analizarse con respecto a la evaluación del riesgo de desarrollar una toxicidad después de la administración de una terapia celular incluyen uno o más analitos seleccionados de LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 y MIP-1β. En algunas divulgaciones, para cualquiera de los analitos anteriores o biomarcadores, el sujeto tiene riesgo de desarrollar toxicidad si el nivel, cantidad o concentración del uno o más de los analitos está por encima de un nivel umbral y el sujeto tiene un riesgo bajo de desarrollar toxicidad si el nivel, cantidad o concentración del uno o más de los analitos está por debajo de un nivel umbral. En algunas divulgaciones, la toxicidad es neurotoxicidad. En algunas divulgaciones, los niveles elevados de LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 y MIP-1β, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a un mayor riesgo de desarrollar una

neurotoxicidad.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 30% o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por encima del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 o MIP-1β en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo no desarrolló ninguna toxicidad después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 30% o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por debajo del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 o MIP-1β en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo desarrolló una toxicidad después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una NT de grado 2 o superior. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una NT de grado 3 o superior. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una NT grave. En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una SLC de grado 2 o superior. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una SLC de grado 3 o superior. En alguna divulgación, la toxicidad es una SLC grave.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para LDH está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 300 U/l, 400 U/l, 500 U/l, 600 U/l o 700 U/l.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para ferritina está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml, 900 ng/ml, 1000 ng/ml o 1500 ng/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para PCR está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 20 mg/l, 30 mg/l, 40 mg/l, 50 mg/l, 60 mg/l, 70 mg/l o 80 mg/l.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-6 está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 5 pg/ml, 6 pg/ml, 7 pg/ml, 8 pg/ml, 9 pg/ml, 10 pg/ml, 20 pg/ml o 30 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-8 está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 8 pg/ml, 9 pg/ml, 10 pg/ml, 20 pg/ml o 30 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-10 está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 20 pg/ml, 30 pg/ml, 40 pg/ml, 50 pg/ml, 60 pg/ml o 70 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para TNF-α está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 20 pg/ml o 30 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para IFN-α2 está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 40 pg/ml, 50 pg/ml, 60 pg/ml, 70 pg/ml o 80 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral a modo de ejemplo para MCP-1; y/o está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 200 pg/ml o 300 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para MIP-1β está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 40 pg/ml, 50 pg/ml, 60 pg/ml, 70 pg/ml o 80 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral a modo de ejemplo para SPD está en o en aproximadamente o por encima exactamente o aproximadamente de 30 cm^2, 40 cm^2, 50 cm^2, 60 cm^2 o 70 cm^2.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral a modo de ejemplo para LDH es exactamente o aproximadamente o está por encima exactamente o aproximadamente de 300 unidades por litro, 400 unidades por litro, 500 unidades por litro o 600 unidades por litro.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para ferritina es exactamente o aproximadamente o está por encima exactamente o aproximadamente de 1000 ng/ml, 2000 ng/ml, 3000 ng/ml, 4000 ng/ml, 5000 ng/ml, 6000 ng/ml, 7000 ng/ml o 8000 ng/ml.

En algunas divulgaciones, el nivel umbral a modo de ejemplo para PCR es exactamente o aproximadamente o está por encima exactamente o aproximadamente de 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 20 mg/l, 25 mg/l, 30 mg/l, 40 mg/l o 50

mg/l.

En algunas divulgaciones, el parámetro es SPD y el nivel de umbral es 50 cm^2. En algunas divulgaciones, el parámetro es LDH y el nivel umbral es 500 unidades por litro. En algunas divulgaciones, el uno o más parámetros son SPD y LDH, y el nivel de umbral para SPD es 50 cm^2 y el nivel umbral para la LDH es 500 unidades por litro.

En algunas divulgaciones, el parámetro es ferritina y el nivel umbral es 5000 ng/ml. En algunas divulgaciones, el parámetro es PCR y el nivel umbral es 10 mg/l. En algunas divulgaciones, el uno o más parámetros son ferritina y PCR, y el nivel umbral para ferritina es 5000 ng/ml y el nivel umbral para PCR es 10 mg/l.

En algunas divulgaciones, analitos o biomarcadores a modo de ejemplo que pueden evaluarse o analizarse con respecto a la evaluación del riesgo de desarrollar una toxicidad después de la administración de una terapia celular incluyen uno o más analitos seleccionados de IL-8, IL-10 y CXCL10. En algunas divulgaciones, para cualquiera de los analitos anteriores o biomarcadores, el sujeto tiene riesgo de desarrollar toxicidad si el nivel, cantidad o concentración del uno o más de los analitos está por encima de un nivel umbral y el sujeto tiene un riesgo bajo de desarrollar toxicidad si el nivel, cantidad o concentración del uno o más de los analitos está por debajo de un nivel umbral. En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT. En algunas divulgaciones, la toxicidad es una NT grave o una NT de grado 3 o superior. En algunas divulgaciones, los niveles elevados de IL-8, IL-10 y CXCL10, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden estar asociados a un mayor riesgo de desarrollar una NT, o una NT grave o una NT de grado 3 o superior.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 30% o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por encima del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de IL-8, IL-10 o CXCL10 en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo no desarrolló ninguna toxicidad después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 30% o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por debajo del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de IL-8, IL-10 o CXCL10 en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo desarrolló una toxicidad después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, analitos o biomarcadores a modo de ejemplo o una medida volumétrica de carga tumoral que se pueden evaluar o analizar con respecto a la evaluación del riesgo de desarrollar una toxicidad después de la administración de una terapia celular incluyen uno o más analitos o medidas volumétricas de carga tumoral seleccionados de una suma de los productos de diámetros (SPD), LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), dímero D (producto de degradación de la fibrina), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, MIP-1α y MIP-1β. En algunas divulgaciones, para cualquiera de los analitos o biomarcadores anteriores o medida volumétrica de la carga tumoral, el sujeto tiene riesgo de desarrollar toxicidad si el nivel, cantidad o concentración del uno o más de los analitos o la medida volumétrica de la carga tumoral está por encima de un nivel umbral y el sujeto tiene un riesgo bajo de desarrollar toxicidad si el nivel, cantidad o concentración del uno o más de los analitos o la medida volumétrica de la carga tumoral está por debajo de un nivel umbral. En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT. En algunas divulgaciones, los niveles elevados o medida de una suma de los productos de diámetros (SPD), LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), dímero D (producto de degradación de la fibrina), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, MIP-1α y MIP-1β, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a un mayor riesgo de desarrollar una NT (NT) o un síndrome de liberación de citocinas (SLC).

En algunas divulgaciones, el uno o más analitos o medidas volumétricas de la carga tumoral se seleccionan de LDH, SPD, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α y MIP-1β, y la toxicidad es NT. En algunas divulgaciones, el uno o más analitos o medidas volumétricas de la carga tumoral se seleccionan de LDH, SPD, PCR, dímero d, IL-6, IL-15, TNF-α y MIP-1α, y la toxicidad es SLC. En algunas divulgaciones, los niveles elevados o medida de LDH, SPD, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α y MIP-1β, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a un mayor riesgo de desarrollar una NT (NT). En algunas divulgaciones, los niveles elevados o medida de LDH, SPD, PCR, dímero d, IL-6, IL-15, TNF-α y MIP-1α, en una muestra biológica de un sujeto obtenida antes de la administración de una terapia celular (pretratamiento), pueden asociarse a un mayor riesgo de desarrollar un síndrome de liberación de citocinas (SLC).

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 32% o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por encima del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), dímero D (producto de degradación de la fibrina), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, MIP-1α o MIP-1β, o la medida volumétrica mediana o media de la carga tumoral de una suma de los productos de diámetros (SPD), en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de

recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo no desarrolló ninguna toxicidad después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 32% o dentro del 5 % y/o está dentro de una desviación estándar por debajo del nivel mediano o medio, cantidad o concentración de LDH, ferritina, proteína C reactiva (PCR), dímero D (producto de degradación de la fibrina), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, MIP-1α o MIP-1β, o la medida volumétrica mediana o media de la carga tumoral de una suma de los productos de diámetros (SPD), en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una terapia celular, en donde cada uno de los sujetos del grupo desarrolló una toxicidad después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT y el nivel umbral a modo de ejemplo para LDH está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 300 U/l, 400 U/l, 500 U/l o 600 U/l.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT y el nivel de umbral a modo de ejemplo para SPD está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 30 cm^2, 40 cm^2, 50 cm^2, 60 cm^2, 70 cm^2, 80 cm^2 o 90cm^2.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT y el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-10 está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 0,8 pg/ml, 0,9 pg/ml, 1 pg/ml, 2 pg/ml, 3 pg/ml o 4 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT y el nivel umbral ejemplar para IL-15 está en o aproximadamente o por encima o por encima de aproximadamente 3 pg/ml, 4 pg/ml, 5 pg/ml, 6 pg/ml o 7 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT y el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-16 está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 600 pg/ml, 700 pg/ml, 800 pg/ml, 900 pg/ml o 1000 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT y el nivel umbral a modo de ejemplo para TNF-α está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 6 pg/ml, 7 pg/ml, 8 pg/ml, 9 pg/ml o 10 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT y el nivel umbral a modo de ejemplo para MIP-1β está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 70 pg/ml, 80 pg/ml, 90 pg/ml o 100 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para LDH está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 300 U/l, 400 U/l, 500 U/l o 600 U/l.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel de umbral para SPD está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 20 cm^2, 30 cm^2, 40 cm^2 o 50 cm^2.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para ferritina está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 300 ng/ml, 400 ng/ml, 500 ng/ml, 600 ng/ml, 700 ng/ml, 800 ng/ml, 900 ng/ml o 1000 ng/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para PCR está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 20 mg/l, 30 mg/l o 40 mg/l.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para dímero d está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 300 pg/ml, 400 pg/ml, 500 pg/ml, 600 pg/ml, 700 pg/ml, 800 pg/ml, 900 pg/ml o 1000 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para IL-6 está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 2 pg/ml, 3 pg/ml, 4 pg/ml, 5 pg/ml, 6 pg/ml, 7 pg/ml, 8 pg/ml o 9 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral ejemplar para IL-15 está en o aproximadamente o por encima o por encima de aproximadamente 3 pg/ml, 4 pg/ml, 5 pg/ml, 6 pg/ml, 7 pg/ml, 8 pg/ml, 9 pg/ml o 10 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para TNF-α está en o en aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 7 pg/ml, 8 pg/ml, 9 pg/ml, 10 pg/ml o 15 pg/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para MIP-1α está en o en

aproximadamente o por encima o por encima aproximadamente de 20 pg/ml, 30 pg/ml o 40 pg/ml.

En algunas divulgaciones, el biomarcador es LDH y en algunos casos, el desarrollo de toxicidad, por ejemplo, SLC o NT, se correlaciona con el valor de LDH que está por encima de un valor umbral. En algunas divulgaciones, el marcador inflamatorio es LDH y el valor umbral es o es aproximadamente de 300 unidades por litro, es o es aproximadamente de 400 unidades por litro, es o es aproximadamente de 500 unidades por litro o es o es aproximadamente de 600 unidades por litro.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT o SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para SPD es exactamente o aproximadamente o está por encima exactamente o aproximadamente de 30 cm^2, 40cm^2, 50 cm^2, 60 cm^2 o 70 cm^2.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT o SLC y el nivel de umbral a modo de ejemplo para LDH es exactamente o aproximadamente o está por encima exactamente o aproximadamente de 300 unidades por litro, 400 unidades por litro, 500 unidades por litro o 600 unidades por litro.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT o SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para ferritina es exactamente o aproximadamente o está por encima exactamente o aproximadamente de 1000 ng/ml, 2000 ng/ml, 3000 ng/ml, 4000 ng/ml, 5000 ng/ml, 6000 ng/ml, 7000 ng/ml o 8000 ng/ml.

En algunas divulgaciones, la toxicidad es NT o SLC y el nivel umbral a modo de ejemplo para PCR es exactamente o aproximadamente o está por encima exactamente o aproximadamente de 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, 20 mg/l, 25 mg/l, 30 mg/l, 40 mg/l o 50 mg/l.

En algunas divulgaciones, el parámetro es SPD y el nivel de umbral es 50 cm^2. En algunas divulgaciones, el parámetro es LDH y el nivel umbral es 500 unidades por litro. En algunas divulgaciones, el uno o más parámetros son SPD y LDH, y el nivel de umbral para SPD es 50 cm^2 y el nivel umbral para la LDH es 500 unidades por litro.

En algunas divulgaciones, si el nivel, cantidad o concentración del biomarcador (por ejemplo, analito) en la muestra es exactamente o está por encima de un nivel umbral para el analito, un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad se administra al sujeto antes de, dentro de uno, dos o tres días de, simultáneamente con y/o en la primera fiebre después de, el inicio de la administración de la terapia celular al sujeto. Los agentes o intervenciones a modo de ejemplo para su uso en relación con los métodos divulgados para tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el riesgo de desarrollar toxicidad se describen en la Sección II.

En algunos casos, si el nivel, cantidad o concentración del biomarcador en la muestra es exactamente o está por encima de un nivel umbral, la terapia celular se administra al sujeto a una dosis reducida o a una dosis que no se asocia al riesgo de desarrollar toxicidad o toxicidad grave, o no se asocia al riesgo de desarrollar una toxicidad o toxicidad grave en la mayoría de los sujetos, y/o una mayoría de sujetos que tienen una enfermedad o condición que el sujeto tiene o se sospecha que tiene, después de la administración de la terapia celular. En algunos casos, si el nivel, cantidad o concentración del biomarcador en la muestra es exactamente o está por encima de un nivel umbral, la terapia celular se administra al sujeto en un entorno hospitalario y/o con admisión en el hospital durante uno o más días, opcionalmente en donde la terapia celular se ha de administrar de otro modo a los sujetos de forma ambulatoria o sin admisión en el hospital durante uno o más días.

En algunas divulgaciones, si el nivel, cantidad o concentración del biomarcador (por ejemplo, analito) está por debajo de un nivel umbral para el analito, se administra terapia celular al sujeto, opcionalmente a una dosis no reducida. En algunos casos, la terapia celular se administra opcionalmente de forma ambulatoria o sin admisión en el hospital durante uno o más días. En algunas divulgaciones, si el nivel, cantidad o concentración del analito, es inferior a un nivel umbral, la administración de la terapia celular no incluye la administración, antes o simultáneamente con la administración de la terapia celular y/o antes del desarrollo de un signo de síntoma de una toxicidad distinta de la fiebre, un agente o tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar o atenuar el desarrollo de la toxicidad; y/o la administración de la terapia celular ha de administrarse o puede administrarse al sujeto en un entorno ambulatorio y/o sin admisión del sujeto en el hospital durante la noche o durante uno o más días consecutivos y/o es sin admisión del sujeto en el hospital durante uno o más días.

En algunas divulgaciones de los métodos divulgados, se determina que un sujeto está en riesgo de desarrollar toxicidad (*p. ej.*, neurotoxicidad, tal como NT grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior, por ejemplo NT de grado 4 o 5 y/o SLC, tal como SLC grave o SLC de grado 3 o superior) mediante una comparación del parámetro (*p. ej.*, concentración, cantidad, nivel o actividad) del biomarcador (por ejemplo, analito) o, individualmente, cada uno de los biomarcadores (por ejemplo, analitos) con un valor de referencia, tal como nivel umbral, del parámetro correspondiente para el biomarcador o a cada biomarcador. En algunas divulgaciones, la comparación indica si el sujeto tiene o no riesgo de desarrollar toxicidad, por ejemplo, NT tal como NT grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior, por ejemplo NT de grado 4 o 5 y/o SLC, tal como SLC grave o SLC de grado 3 o superior, y/o indica un grado de riesgo para desarrollar dicha toxicidad. En algunas divulgaciones, el valor de referencia es aquel que es un

nivel umbral o corte en el que existe un buen valor predictivo (*p. ej.*, exactitud, sensibilidad y/o especificidad) de que dicha toxicidad ocurrirá o es probable que ocurra, ya sea sola o en combinación con uno o más biomarcadores en el panel. En algunos casos, tal valor de referencia, p. ej. nivel de umbral, puede ser o se predetermina o se conoce antes de realizar el método, tal como de una pluralidad de sujetos previamente tratados con una terapia celular y evaluados para determinar la correlación del parámetro del biomarcador o, individualmente, cada uno de los biomarcadores en un panel con respecto a la presencia de un resultado tóxico (*p. ej.,* la presencia de NT, tal como NT grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior, por ejemplo NT de grado 4 o 5 y/o SLC, tal como SLC grave o SLC de grado 3 o superior).

En algunas divulgaciones, un parámetro de un biomarcador (*p. ej.*, LDH, ferritina, PCR, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 y MIP-1β) que sea más alto o mayor que el valor de referencia, p. ej. nivel de umbral, del parámetro correspondiente se asocia a una predicción positiva de un riesgo de toxicidad (solo o junto con la evaluación de los otros biomarcadores del panel). En algunas divulgaciones, un parámetro de un biomarcador que es igual o inferior al valor de referencia, p. ej. nivel de umbral, del parámetro correspondiente se asocia a una predicción negativa de un riesgo de toxicidad (solo o junto con la evaluación de los otros biomarcadores del panel).

En algunas divulgaciones, el nivel de umbral se determina en función del nivel, cantidad, concentración u otra medida del biomarcador (por ejemplo, analito) en la muestra positiva para el biomarcador. En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % del nivel promedio, cantidad o concentración o medida, y/o está dentro de una desviación estándar del nivel promedio, cantidad o concentración o medición, del analito o parámetro en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes, en donde cada uno de los sujetos del grupo desarrolló una toxicidad, p. ej. NT tal como NT grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior, por ejemplo NT de grado 4 o 5 y/o SLC, tal como SLC grave o SLC de grado 3 o superior, después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones de cualquiera de los métodos que se divulgan, el biomarcador (por ejemplo, analito) se correlaciona con y/o es predictivo del riesgo de desarrollar NT grave, tal como NT grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior, p. ej., NT de grado 4 o 5 y/o SLC grave o SLC de grado 3 o superior. En algunas divulgaciones, el nivel de umbral está dentro del 25 %, dentro del 20 %, dentro del 15 %, dentro del 10 % o dentro del 5 % del nivel promedio, cantidad o concentración o medida, y/o está dentro de una desviación estándar del nivel promedio, cantidad o concentración o medición, del analito o parámetro en una muestra biológica obtenida de un grupo de sujetos antes de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes, en donde cada uno de los sujetos del grupo desarrolló NT grave o neurotoxicidad de grado 3 o superior, p. ej., NT de grado 4 o 5 y/o SLC grave o SLC de grado 3 o superior, después de recibir una composición de células terapéuticas que expresan receptores recombinantes para tratar la misma enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, la medida volumétrica es SPD y en algunos casos, el desarrollo de toxicidad, por ejemplo, SLC o NT, se correlaciona con el valor de SPD que está por encima de un valor umbral. En algunas divulgaciones, la medida volumétrica es SPD, y el valor umbral es o es aproximadamente 30 cm^2, es o es aproximadamente 40 cm^2, es o es aproximadamente 50 cm^2, es o es aproximadamente 60 cm^2 o es o es aproximadamente 70 cm^2. En algunas divulgaciones, la medida volumétrica es SPD y el valor umbral es o es aproximadamente 30 cm^2, es o es aproximadamente 40 cm^2, es o es aproximadamente 50 cm^2, es o es aproximadamente 60 cm^2 o es o es aproximadamente 70 cm^2.

En algunas divulgaciones, el parámetro, incluyendo mediciones volumétricas del tumor o está asociado con la respuesta a la terapia celular y/o un riesgo de desarrollar toxicidad, por ejemplo, SLC o NT (NT).

En algunas divulgaciones, la medida volumétrica es SPD y el nivel umbral es o es aproximadamente 30 cm^2, es o es aproximadamente 40 cm^2, es o es aproximadamente 50 cm^2, es o es aproximadamente 60 cm^2 o es o es aproximadamente 70 cm^2. En algunas divulgaciones, la medida volumétrica es SPD, y el nivel umbral es o es aproximadamente 50 cm^2.

En algunas divulgaciones, el analito es LDH y el nivel umbral es o es aproximadamente 300 unidades por litro (U/l), es o es aproximadamente 400 U/l, es o es aproximadamente 500 U/l o es o es aproximadamente 600 U/l. En algunas divulgaciones, el analito es LDH y el nivel umbral es o es aproximadamente 500 U/l.

En algunas divulgaciones, el parámetro o biomarcador es LDH. En algunas divulgaciones, el biomarcador es LDH y el valor umbral es o es aproximadamente 500 U/l o superior. En algunas divulgaciones, el parámetro o biomarcador es SPD. En algunas divulgaciones, el parámetro es SPD y el valor umbral es o es aproximadamente 50 cm^2 o superior. En algunas divulgaciones, el biomarcador o los parámetros son SPD y LDH, y los valores umbral son SPD de exactamente o aproximadamente 50 cm^2 o superior y LDH de exactamente o aproximadamente 500 U/l o superior. En algunas divulgaciones, los biomarcadores o parámetros están asociados a un mayor riesgo de desarrollar SLC o NT.

En algunas divulgaciones, una medición del parámetro o marcador que está por encima del valor umbral, por ejemplo, SPD de exactamente o aproximadamente 50 cm^2 o superior y LDH de exactamente o aproximadamente 500 U/l o superior, está asociada a un aumento del riesgo aproximadamente de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 veces o más de desarrollar SLC o NT, tal como cualquier grado de SLC o NT. En algunas divulgaciones, una medición del parámetro o marcador que está por debajo del valor umbral, por ejemplo, SPD inferior a exactamente o aproximadamente 500 cm^2 y LDH inferior a exactamente o aproximadamente 500 U/l, está asociada a una reducción del riesgo aproximadamente de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 veces o más de desarrollar SLC o NT, tal como cualquier grado de SLC o NT.

En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluyen aquellos asociados a un aumento de los parámetros farmacocinéticos (PK) de la célula, por ejemplo, aumento de la concentración sérica máxima de células ($C_{máx}$) o mayor exposición (p. ej., área bajo la curva (ABC)). En algunas divulgaciones, los biomarcadores (por ejemplo, analitos), incluidos parámetros de los mismos, incluyen IL-7, IL-15, MIP-1α y TNF-α.

En algunas divulgaciones, el parámetro es un parámetro relacionado con la carga tumoral, por ejemplo, una medición de la carga tumoral. En algunas divulgaciones, los métodos también implican monitorear además al sujeto para determinar posibles síntomas de toxicidad basándose en el riesgo de toxicidad determinado mediante la evaluación de la presencia o ausencia del biomarcador y/o la comparación de los biomarcadores con un valor de referencia o nivel umbral del biomarcador.

En algunas divulgaciones, los sujetos con LNH que tienen una alta carga tumoral previa al tratamiento (medida por la suma del producto de los diámetros perpendiculares (SPD; ≥ 500 cm^2) o alto nivel de lactato deshidrogenasa sérica (LDH; ≥ 500 U/l) antes del inicio de la reducción de linfocitos también pueden tener un mayor riesgo de desarrollar SLC y/o NT. En algunas divulgaciones, los altos niveles previos a la administración de marcadores inflamatorios, como la ferritina y la proteína C reactiva (PCR) también pueden estar asociados al SLC. En algunas divulgaciones, los niveles máximos de IL-6, IFN-γ, ferritina y PCR pueden asociarse a NT de cualquier grado o de grado 3 o superior. En algunas divulgaciones, los sujetos con leucemia linfoblástica aguda (LLA) de linfocitos B y una alta carga de enfermedad pueden tener un riesgo elevado de desarrollar SLC. En algunas divulgaciones, la NT grave puede asociarse a una mayor carga de enfermedad en el momento de la terapia celular adoptiva. En algunas divulgaciones, los niveles de proteínas en el líquido cefalorraquídeo (LCR) pueden estar elevados en pacientes con NT, en comparación con las mediciones de referencia. En algunas revelaciones, la disfunción de otros órganos (hepática y renal), como también hipoxemia e infección, también podría contribuir a la encefalopatía. En algunas divulgaciones, la activación endotelial mediada por citocinas puede estar asociada con coagulopatía, fuga capilar y alteración de la barrera hematoencefálica que permite el tránsito de altas concentraciones de citocinas sistémicas al LCR.

3. Reactivos para medición

En algunas divulgaciones, el parámetro, por ejemplo, factor de paciente, biomarcador, marcador inflamatorio y/o citocina, se detecta utilizando uno o más reactivos capaces de detectar o que son específicos para el parámetro. En algunas divulgaciones, también se divulgan kits y artículos de fabricación, para la detección o evaluación de los parámetros y/o para la modulación de la terapia, por ejemplo, terapia celular.

En algunas divulgaciones, también se proporcionan instrucciones para usar el reactivo para analizar una muestra biológica de un sujeto que es candidato para el tratamiento, opcionalmente con una terapia celular, incluyendo opcionalmente dicha terapia celular una dosis o composición de células modificadas genéticamente que expresan un receptor recombinante. En algunas divulgaciones sobre el uso de los artículos de fabricación, el nivel o presencia del ligando 13 de la quimiocina con motivo C-C (CCL13), proteína C reactiva (PCR), quimiocina 10 con motivo C-X-C (CXCL10), dímero D (producto de degradación de la fibrina), ferritina, IFN-α2, interleucina-2 (IL-2), IL-10, IL-15, IL-16, IL-6, IL-7, IL-8, interferón gamma (IFN-γ), lactato deshidrogenasa (LDH), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1α), MIP-1β, proteína-1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1), SAA-1, amiloide A1 sérico (SAA-1), factor alfa de necrosis tumoral (TNF-α), se detecta y evalúa. En algunas divulgaciones sobre el uso de los artículos de fabricación, el nivel o presencia de proteína C reactiva (PCR), la velocidad de sedimentación globular (VSG), albúmina, ferritina, β2 microglobulina (β2-M) o lactato deshidrogenasa (LDH) se detecta y evalúa. También se divulgan métodos para detectar y evaluar uno o más atributos, factores y/o biomarcadores del paciente indicativos de carga tumoral.

En algunas divulgaciones, medir el valor del uno o más parámetros, por ejemplo, biomarcadores, comprende poner en contacto un reactivo capaz de detectar directa o indirectamente el analito con la muestra biológica y determinar la presencia o ausencia, nivel, la cantidad o la concentración del analito en la muestra biológica. En algunas divulgaciones, el uno o más parámetros, por ejemplo, biomarcadores, es ligando 13 de la quimiocina con motivo C-C (CCL13), proteína C reactiva (PCR), quimiocina 10 con motivo C-X-C (CXCL10), dímero D (producto de degradación de la fibrina), ferritina, IFN-α2, interleucina-2 (IL-2), IL-10, IL-15, IL-16, IL-6, IL-7, IL-8, interferón gamma (IFN-γ), lactato deshidrogenasa (LDH), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1α), MIP-1β, proteína-1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1), SAA-1, amiloide A1 sérico (SAA-1), factor alfa de necrosis tumoral (TNF-α), se detecta y evalúa. En algunas divulgaciones sobre el uso de los artículos de fabricación, el nivel o presencia de proteína C reactiva

(PCR), la velocidad de sedimentación globular (VSG), albúmina, ferritina, β2 microglobulina (β2-M) o lactato deshidrogenasa (LDH). En algunas divulgaciones, el uno o más parámetros, por ejemplo, biomarcadores, es o incluye LDH.

En algunas divulgaciones, el reactivo es una molécula de unión que se une específicamente al biomarcador. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el reactivo es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas divulgaciones, el reactivo es o incluye un sustrato o compañero de unión del biomarcador.

En algunas divulgaciones, la presencia, ausencia o nivel, cantidad, la concentración y/u otra medida de LDH se detecta o determina en una muestra. Se conocen diversos métodos para detectar o determinar la LDH. Por ejemplo, un ensayo que mide la conversión de LDH de lactato a piruvato a través de reducción de NAD+ a NADH se puede utilizar para detectar LDH en la muestra. En algunas divulgaciones, la muestra se pone en contacto con lactato en presencia de coenzima NAD que, como medida de LDH en la muestra, da como resultado NADH que luego se oxida en presencia de un agente de transferencia de electrones. En algunas divulgaciones, el NADH interactúa con una sonda o precursor de colorante que es detectable midiendo la absorción en un intervalo de luz visible. En algunas divulgaciones, la diaforasa utiliza el NADH para reducir la sal de tetrazolio (INT) a un producto de formazán rojo y se mide el producto. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, la cantidad de producto coloreado formado es directamente proporcional a la actividad de LDH en la muestra.

En algunas divulgaciones, los atributos, factores y/o biomarcadores del paciente se evalúan mediante un ensayo inmunológico. Por ejemplo, un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunoensayo enzimático (EIA), radioinmunoensayo (RIA), resonancia de plasmón superficial (SPR), análisis por transferencia de Western, ensayo de flujo lateral, inmunohistoquímica, matriz de proteínas o inmuno-PCR (iPCR) puede usarse para detectar los atributos, factores y/o biomarcadores del paciente. En algunas divulgaciones, el uso de los artículos de fabricación incluye la detección de atributos, factores y/o biomarcadores del paciente indicativos de carga tumoral. En algunos casos, el ensayo o evaluación de los atributos, factores y/o biomarcadores de un paciente es usando citometría de flujo. En algunos casos, el reactivo es una proteína soluble que se une a los atributos, factores y/o biomarcadores del paciente. En algunas divulgaciones, el reactivo es una proteína que se une a la proteína C reactiva (PCR), la velocidad de sedimentación globular (VSG), albúmina, ferritina, β2 microglobulina (β2-M) o lactato deshidrogenasa (LDH).

En algunas divulgaciones, la proteína C reactiva (PCR) se evalúa usando un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas in vitro para obtener una medición cuantitativa de la PCR humana a partir de una muestra como suero, plasma o sangre. En algunas divulgaciones, la PCR se detecta usando un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas humanas (ELISA). En algunas divulgaciones, la velocidad de sedimentación globular (VSG) se evalúa midiendo la distancia (en milímetros por hora) que han caído los glóbulos rojos después de separarse del plasma en una pipeta o tubo vertical. En algunas divulgaciones, la albúmina se evalúa usando una prueba colorimétrica o un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas in vitro. En algunas divulgaciones, la albúmina se detecta usando un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas humanas (ELISA). En algunas divulgaciones, la ferritina o la β2 microglobulina se evalúan usando un inmunoensayo o se detectan usando un ELISA. En algunas divulgaciones, la lactato deshidrogenasa (LDH) se evalúa usando una prueba colorimétrica o un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas in vitro.

Entre los anticuerpos divulgados están anticuerpos monoclonales, incluyendo fragmentos de anticuerpos monoclonales. La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de o en una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que componen la población son idénticos, excepto por posibles variantes que contengan mutaciones naturales o que surjan durante la producción de una preparación de anticuerpos monoclonales, estando presentes dichas variantes generalmente en escasas cantidades. A diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales, que incluyen típicamente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes epítopos, cada anticuerpo monoclonal de una preparación de anticuerpos monoclonales está dirigido contra un solo epítopo en un antígeno. No debe interpretarse que el término requiera la producción del anticuerpo por cualquier método concreto. Un anticuerpo monoclonal se puede preparar mediante una variedad de técnicas, incluyendo pero sin limitación la generación a partir de un hibridoma, métodos de ADN recombinante, la presentación en fago y otros métodos de presentación de anticuerpos.

También se describen inmunoconjugados de anticuerpos que comprenden un anticuerpo contra un biomarcador unido a un marcador, que puede generar una señal detectable, indirecta o directamente. Estos inmunoconjugados de anticuerpos pueden usarse para aplicaciones de investigación o diagnóstico. El marcador es preferentemente capaz de producir, ya sea directa o indirectamente, una señal detectable. Por ejemplo, el marcador puede ser radioopaco o un radioisótopo, tal como ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S, ^{123}I, ^{125}I, ^{131}I; un compuesto fluorescente (fluoróforo) o quimioluminiscente (cromóforo), tal como isotiocianato de fluoresceína, rodamina o luciferina; una enzima, tal como fosfatasa alcalina, β-galactosidasa o peroxidasa de rábano picante; un agente de formación de imágenes; o un ion de metal. En algunas divulgaciones, el marcador es un átomo radiactivo para estudios gammagráficos, por ejemplo ^{99}Tc o ^{123}I, o un marcador giratorio para formación de imágenes por resonancia magnética nuclear (RMN) (también conocida como formación de imágenes por resonancia magnética, IRM), tales como circonio-89, yodo-123, yodo-

131, indio-111, flúor-19, carbono-13, nitrógeno-15, oxígeno-17, gadolinio, manganeso o hierro. El circonio-89 puede complejarse a diversos agentes quelantes metálicos y conjugarse a anticuerpos, por ejemplo, para formación de imágenes por TEP (WO 2011/056983).

En algunas divulgaciones, e inmunoconjugado de anticuerpo puede detectarse indirectamente. Por ejemplo, un anticuerpo secundario que es específico para el anticuerpo contra el marcador expresado en una población de inmunoconjugado de células mieloides y contiene un marcador detectable puede usarse para detectar el inmunoconjugado de anticuerpo.

En algunas divulgaciones, los anticuerpos capaces de detectar o que sean específicos de los atributos, factores y/o biomarcadores del paciente divulgados en el presente documento pueden identificarse, someterse a detección sistemática o caracterizarse respecto de sus propiedades fisicoquímicas y/o sus actividades biológicas mediante diversos ensayos conocidos. En una divulgación, el anticuerpo se prueba para determinar su actividad de unión al antígeno, por ejemplo, mediante métodos conocidos tal como un inmunoensayo, ELISA, análisis por transferencia de Western y/o ensayos de citometría de flujo, incluidos ensayos de unión a base de células.

II. INTERVENCIONES O AGENTES QUE TRATAN O MEJORAN LOS SÍNTOMAS DE TOXICIDAD

En algunas divulgaciones, los métodos y artículos de fabricación que se divulgan pueden usarse en relación con, o implican o incluyen, uno o más agentes o tratamientos para tratar, prevenir, retrasar o atenuar el desarrollo de una toxicidad. En algunas divulgaciones, el agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar o atenuar el desarrollo de una toxicidad se administra antes y/o simultáneamente con la administración de una composición celular terapéutica que comprende las células modificadas genéticamente.

En algunas divulgaciones, el agente, por ejemplo, un agente dirigido a la toxicidad, o el tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar o atenuar el desarrollo de una toxicidad es un esteroide, es un antagonista o inhibidor de un receptor de citocinas, tal como un receptor de IL-6, un receptor de CD 122 (receptor de IL-2Rbeta) o CCR2, o es un inhibidor de una citocina, tales como IL-6, MCP-1, IL-10, IFN-γ, IL-8 o IL-18. En algunas divulgaciones, el agente es un agonista de un receptor de citocinas y/o citocinas, tal como TGF-β. En algunas divulgaciones, el agente, por ejemplo, agonista, antagonista o inhibidor, es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, puede emplearse un bolo de fluido como intervención, tal como para tratar la hipotensión asociada a SLC. En algunas divulgaciones, los niveles de hematocrito objetivo son > 24 %. En algunas divulgaciones, la intervención incluye el uso de tecnología de resina absorbente con filtración de sangre o plasma. En algunos casos, la intervención incluye diálisis, plasmaféresis o tecnologías similares. En algunas divulgaciones, pueden emplearse vasopresores o acetaminofeno.

En algunas divulgaciones, el agente puede administrarse secuencialmente, intermitentemente o al mismo tiempo que o en la misma composición que la terapia, tal como células para terapia celular adoptiva. Por ejemplo, el agente puede administrarse antes, durante, simultáneamente con, o después de la administración de la inmunoterapia y/o terapia celular.

En algunas divulgaciones, el agente se administra en un momento como se describe en el presente documento y de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan. En algunas divulgaciones, el agente dirigido a la toxicidad se administra en un momento en, tal como inferior a o no superior a, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 días después del inicio de la inmunoterapia y/o terapia celular. En algunas divulgaciones, el agente dirigido a la toxicidad se administra en o en aproximadamente 1 día, 2 días o 3 días después del inicio de la administración de la inmunoterapia y/o terapia celular.

En algunas divulgaciones, el agente, por ejemplo, agente dirigido a la toxicidad, se administra a un sujeto después del inicio de la administración de la inmunoterapia y/o terapia celular en un momento en el que el sujeto no presenta SLC de grado 2 o superior o neurotoxicidad de grado 2 o superior. En algunas divulgaciones, el agente dirigido a la toxicidad se administra después del inicio de la administración de la inmunoterapia y/o terapia celular en un momento en el que el sujeto no presenta SLC grave o neurotoxicidad grave. Por lo tanto, entre el inicio de la administración de la inmunoterapia y/o terapia celular y el agente dirigido a la toxicidad, el sujeto es uno que no presenta SLC de grado 2 o superior, tal como SLC grave, y/o no presenta neurotoxicidad de grado 2 o superior, tal como neurotoxicidad grave.

En algunas divulgaciones, el agente puede administrarse basándose en o de acuerdo con determinados procedimientos, directrices, intervenciones o regímenes, por ejemplo, basándose en la evaluación y el seguimiento de los resultados, tal como toxicidad y/o resultados de respuesta, y/o seguimiento de parámetros o biomarcadores, por ejemplo, parámetros farmacocinéticos, atributos o factores del paciente y/o expresión de biomarcadores. En algunas divulgaciones, los procedimientos, directrices, intervención o régimen a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, intervención o regímenes descrito en el documento WO 2019/109035.

Se describen ejemplos no limitativos de intervenciones para tratar o mejorar una toxicidad, tal como SLC grave (SLCg) o neurotoxicidad grave, en la **Tabla 7.** En algunas divulgaciones, la intervención incluye tocilizumab u otro agente dirigido a la toxicidad como se describe, que puede ser en un momento en el que hay una fiebre sostenida o persistente de más de o aproximadamente 38 °C o más de o más de aproximadamente 39 °C en el sujeto. En algunas divulgaciones, la fiebre se sostiene en el sujeto durante más de 10 horas, más de 12 horas, más de 16 horas o más de 24 horas antes de la intervención.

Tabla 7. Intervenciones de ejemplo.

Síntomas relacionados con SLC	**Intervención sugerida**
Fiebre de ≥ 38,3 °C	Acetaminofeno (12,5 mg/kg) VO/IV hasta cada cuatro horas
Fiebre persistente de ≥ 39 °C durante 10 horas que no responde al acetaminofeno	Tocilizumab (8-12 mg/kg) IV
Fiebre persistente de ≥ 39 °C después de tocilizumab	Dexametasona 5-10 mg IV/VO hasta cada 6-12 horas con fiebre continua
Recurrencia de los síntomas 48 horas después de la dosis inicial de tocilizumab	Tocilizumab (8-12 mg/kg) IV
Hipotensión	Bolo de fluido, hematocrito objetivo > 24 %
Hipotensión persistente/recurrente después del bolo de fluido inicial (en 6 horas)	Tocilizumab (8-12 mg/kg) IV
Uso de vasopresores de dosis baja para la hipotensión durante más de 12 horas	Dexametasona 5-10 mg IV/VO hasta cada 6 horas con el uso continuado de vasopresores
Inicio de vasopresores de dosis más altas o adición de un segundo vasopresor para la hipotensión	Dexametasona 5-10 mg IV/VO hasta cada 6 horas con el uso continuado de vasopresores
Inicio de la suplementación de oxígeno	Tocilizumab (8-12 mg/kg) IV
Aumento del soporte respiratorio con preocupación por intubación inminente	Dexametasona 5-10 mg IV/VO hasta cada 6 horas con el uso continuado de vasopresores
Recurrencia/persistencia de síntomas para los que se proporcionó tocilizumab ≥ 48 horas después de la administración de la dosis inicial	Tocilizumab (8-12 mg/kg) IV

Otros ejemplos no limitativos de administración del agente o terapia o intervención, se describen en la **Tabla 8** (SLC) y la **Tabla 9** (NT) a continuación. En algunas divulgaciones, el síndrome de liberación de citocinas (SLC) se identifica según la presentación clínica. En algunas divulgaciones, el sujeto se evalúa y se trata por otras causas de fiebre, hipoxia e hipotensión. En algunas divulgaciones, si se sospecha que el sujeto tiene SLC, El SLC de trata de acuerdo con las directrices de la **Tabla 8.** En algunas divulgaciones, si se sospecha que el sujeto tiene una toxicidad neurológica concurrente, durante el SLC, la toxicidad neurológica se trata de acuerdo con las directrices de la **Tabla 9.**

Tabla 8. Guía de calificación y tratamiento de SLC

Grado de CRS[a]	**Tocilizumab**	**Corticosteroides**
Grado 1 Fiebre	Si 72 horas o más después de la infusión, tratar sintomáticamente. Si menos de 72 horas después de la infusión, administrar tocilizumab 8 mg/kg IV durante 1 hora (sin exceder los 800 mg).	Si 72 horas o más después de la infusión, tratar sintomáticamente. Si menos de 72 horas después de la infusión, administrar dexametasona 10 mg IV cada 24 horas.
Grado 2 Los síntomas requieren y responden a una intervención moderada. Fiebre, requerimiento de oxígeno inferior al 40 % de FiO_2, o hipotensión que responde a líquidos o dosis bajas de un vasopresor, o toxicidad orgánica de grado 2.	Administrar tocilizumab 8 mg/kg IV durante 1 hora (sin exceder los 800 mg).	Si 72 horas o más después de la infusión, considerar dexametasona 10 mg IV cada 12-24 horas. Si menos de 72 horas después de la infusión, administrar dexametasona 10 mg IV cada 12-24 horas.
	Si no hay mejoría en 24 horas o si hay progresión rápida, repetir tocilizumab y aumentar la dosis y frecuencia de la dexametasona (10-20 mg IV cada 6 a 12 horas). Si no hay mejoría o una progresión rápida y continua, maximizar la dexametasona, cambiar a dosis altas de metilprednisolona de 2 mg/kg si es necesario. Después de 2 dosis de tocilizumab, considerar inmunosupresores alternativos. No exceder de 3 dosis de tocilizumab en 24 horas, o 4 dosis en total.	

(continuación)

Grado de CRS[a]	Tocilizumab	Corticosteroides
Grado 3 Los síntomas requieren y responden a una intervención agresiva. Fiebre, requerimiento de oxígeno mayor o igual al 40 % de FiO_2, o hipotensión que requiere dosis altas o múltiples vasopresores, o toxicidad orgánica de grado 3, o transaminitis de grado 4.	Según grado 2.	Administrar dexametasona 10 mg IV cada 12 horas.
	Si no hay mejoría en 24 horas o si hay progresión rápida de SLC, intensificar el uso de tocilizumab y esteroides según el grado 2.	
Grado 4 Síntomas potencialmente mortales Requisitos de soporte ventilatorio o hemodiálisis veno-venosa continua (CVVHD) o toxicidad orgánica de grado 4 (excluyendo transaminitis).	Según grado 2.	Administrar dexametasona 20 mg IV cada 6 horas.
	Si no hay mejoría en 24 horas o si hay progresión rápida de SLC, intensificar el uso de tocilizumab y esteroides según el grado 2.	
Si se inician los esteroides, continuar con los esteroides durante al menos 3 dosis o hasta la resolución completa de los síntomas, y considerar disminuir los esteroides. [a] Criterios de Lee para calificar SLC (Lee et al, 2014).		

En algunas divulgaciones, para acontecimientos neurológicos (AN) o neurotoxicidad (NT), el sujeto se monitorea para detectar signos y síntomas de toxicidades neurológicas, por ejemplo, como se describe en la **Tabla 9.** En algunas divulgaciones, se descartan otras causas de síntomas neurológicos. En algunas divulgaciones, se proporciona terapia de apoyo de cuidados intensivos para toxicidades neurológicas graves o potencialmente mortales. En algunas divulgaciones, si se sospecha NT, la NT se gestiona de acuerdo con las directrices de la **Tabla 9.** En algunas divulgaciones, si se sospecha que el sujeto tiene un SLC concurrente durante el acontecimiento de toxicidad neurológica, el SLC se gestiona de acuerdo con las recomendaciones de la Tabla 8.

Tabla 9. Guía de clasificación y gestión de la toxicidad neurológica (NT)

Grado de NT[a]	Corticosteroides y medicamentos anticonvulsivos
Grado 1	Comenzar con medicamentos no sedantes, anticonvulsivos (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones. Si 72 horas o más después de la infusión, observar. Si menos de 72 horas después de la infusión, considerar dexametasona 10 mg IV cada 12 a 24 horas durante 2 a 3 días.
Grado 2	Comenzar con medicamentos no sedantes, anticonvulsivos (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones. Dexametasona 10 mg IV cada 12 horas durante 2-3 días, o más para síntomas persistentes. Considerar una reducción gradual para una exposición total a esteroides de más de 3 días. Si no hay mejoría después de 24 horas o empeora la toxicidad neurológica, aumentar la dosis y/o frecuencia de dexametasona hasta un máximo de 20 mg IV cada 6 horas. Si no hay mejoría después de otras 24 horas, síntomas que progresan rápidamente o surgen complicaciones potencialmente mortales, administrar metilprednisolona (dosis de carga de 2 mg/kg, seguido de 2 mg/kg divididos 4 veces al día; reducir en el intervalo de 7 días).
Grado 3	Comenzar con medicamentos no sedantes, anticonvulsivos (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones. Dexametasona 10 a 20 mg IV cada 8 a 12 horas. No se recomiendan los esteroides para los dolores de cabeza aislados de grado 3. Si no hay mejoría después de 24 horas o empeora la toxicidad neurológica, aumentar a metilprednisolona (dosis y frecuencia según el grado 2). Si se sospecha edema cerebral, considerar hiperventilación y terapia hiperosmolar. Administrar metilprednisolona en dosis altas (1-2 g, repita cada 24 horas si es necesario; disminuir según esté clínicamente indicado) y ciclofosfamida 1,5 mg/m^2.
Grado 4	Comenzar con medicamentos no sedantes, anticonvulsivos (por ejemplo, levetiracetam) para la profilaxis de las convulsiones. Dexametasona 20 mg IV cada 6 horas. Si no hay mejoría después de 24 horas o empeora la toxicidad neurológica, aumentar a metilprednisolona (dosis y frecuencia según el grado 2). Si se sospecha edema cerebral, considerar hiperventilación y terapia hiperosmolar. Administrar metilprednisolona en dosis altas (1-2 g, repita cada 24 horas si es necesario; disminuir según esté clínicamente indicado) y ciclofosfamida 1,5 mg/m^2.
[a] Criterios NCI CTCAE para clasificar las toxicidades neurológicas.	

En algunos casos, el agente o terapia o intervención, por ejemplo, agente dirigido a la toxicidad, se administra solo o se administra como parte de una composición o formulación, tal como una composición o formulación farmacéutica,

como se describe en el presente documento. Por lo tanto, el agente solo o como parte de una composición farmacéutica puede administrarse por vía intravenosa o por vía oral, o por cualquier otra vía de administración conocida aceptable o como se describe en el presente documento.

En algunas divulgaciones, la dosificación del agente o la frecuencia de administración del agente en una pauta posológica se reduce en comparación con la dosificación del agente o su frecuencia en un método en el que un sujeto se trata con el agente después de un SLC de grado 2 o superior o neurotoxicidad, como después de un SLC grave, por ejemplo, de grado 3 o superior, o después de neurotoxicidad grave, por ejemplo, de grado 3 o superior, se ha desarrollado o se ha diagnosticado (por ejemplo, después de que se hayan manifestado signos o síntomas físicos de SLC o neurotoxicidad de grado 3 o superior). En algunas divulgaciones, la dosificación del agente o la frecuencia de administración del agente en una pauta posológica se reduce en comparación con la dosificación del agente o su frecuencia en un método en el que un sujeto se trata para SLC o neurotoxicidad durante más de 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, tres semanas o más después de la administración de la inmunoterapia y/o terapia celular. En algunas divulgaciones, la dosificación se reduce en más de o más de aproximadamente 1,2 veces, 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces o más. En algunas divulgaciones, la dosificación se reduce en más de o aproximadamente el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más. En algunas divulgaciones, se reduce la frecuencia de dosificación, tal como se reduce el número de dosis diarias o se reduce el número de días de dosificación.

A. Esteroide

En algunas divulgaciones, el agente, por ejemplo, agente dirigido a la toxicidad, que trata y/o que previene, retrasa o atenúa el desarrollo o el riesgo de desarrollar una toxicidad a una inmunoterapia y/o una terapia celular, es un esteroide, por ejemplo, corticoesteroide. Los corticoesteroides normalmente incluyen glucocorticoides y mineralocorticoides.

Puede usarse cualquier corticoesteroide, por ejemplo, glucocorticoide, en los métodos que se divulgan en el presente documento. En algunas divulgaciones, los glucocorticoides incluyen glucocorticoides sintéticos y no sintéticos. Los glucocorticoides de ejemplo incluyen, pero sin limitación: alclometasonas, algestonas, beclometasonas (por ejemplo, dipropionato de beclometasona), betametasonas (por ejemplo, 17-valerato de betametasona, acetato sódico de betametasona, fosfato sódico de betametasona, valerato de betametasona), budesonidas, clobetasoles (por ejemplo, propionato de clobetasol), clobetasonas, clocortolonas (por ejemplo, pivalato de clocortolona), cloprednoles, corticoesteronas, cortisonas e hidrocortisonas (por ejemplo, acetato de hidrocortisona), cortivazoles, deflazacorts, desonidas, desoximetasonas, dexametasonas (por ejemplo, 21-fosfato de dexametasona, acetato de dexametasona, fosfato sódico de dexametasona), diflorasonas (por ejemplo, diacetato de diflorasona), diflucortolonas, difluprednatos, enoxolonas, fluazacorts, flucloronidas, fludrocortisonas (por ejemplo, acetato de fludrocortisona), flumetasonas (por ejemplo, pivalato de flumetasona), flunisolidas, fluocinolonas (por ejemplo, acetónido de fluocinolona), fluocinonidas, fluocortinas, fluocortolonas, fluorometolonas (por ejemplo, acetato de fluorometolona), fluperolonas (por ejemplo, acetato de fluperolona), fluprednidenos, fluprednisolonas, flurandrenolidas, fluticasonas (por ejemplo, propionato de fluticasona), formocortales, halcinonidas, halobetasoles, halometasonas, halopredonas, hidrocortamatos, hidrocortisonas (por ejemplo, 21-butirato de hidrocortisona, aceponato de hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, buteprato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, cipionato de hidrocortisona, hemisuccinato de hidrocortisona, probutato de hidrocortisona, fosfato sódico de hidrocortisona, succinato sódico de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona), etabonato de loteprednol, mazipredonas, medrisonas, meprednisonas, metilprednisolonas (aceponato de metilprednisolona, acetato de metilprednisolona, hemisuccinato de metilprednisolona, succinato sódico de metilprednisolona), mometasonas (por ejemplo, furoato de mometasona), parametasonas (por ejemplo, acetato de parametasona), prednicarbatos, prednisolonas (por ejemplo, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, 21-hemisuccinato de prednisolona, acetato de prednisolona; famesilato de prednisolona, hemisuccinato de prednisolona, prednisolona-21 (beta-D-glucurónido), metasulfobenzoato de prednisolona, esteaglato de prednisolona, tebutato de prednisolona, tetrahidroftalato de prednisolona), prednisonas, prednivales, prednilidenos, rimexolonas, tixocortoles, triamcinolonas (por ejemplo, acetónido de triamcinolona, benetónido de triamcinolona, hexacetónido de triamcinolona, 21-palmitato de acetónido de triamcinolona, diacetato de triamcinolona). Estos glucocorticoides y las sales de los mismos se analizan en detalle, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, A. Osol, ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (16.ª ed. 1980).

En algunas divulgaciones, el glucocorticoide se selecciona de entre cortisonas, dexametasonas, hidrocortisonas, metilprednisolonas, prednisolonas y prednisonas. En una divulgación particular, el glucocorticoide es dexametasona.

En algunas divulgaciones, el agente es un corticoesteroide y se administra en una cantidad que es terapéuticamente eficaz para tratar, mejorar o reducir uno o más síntomas de una toxicidad a una inmunoterapia y/o una terapia celular, tal como SLC o neurotoxicidad. En algunas divulgaciones, los indicadores de mejora o tratamiento exitoso incluyen la determinación del fracaso para manifestar una puntuación relevante en la escala de calificación de toxicidad (por ejemplo, escala de calificación de SLC o neurotoxicidad), tal como una puntuación de menos de 3, o un cambio en la calificación o gravedad en la escala de calificación como se analiza en el presente documento, tal como un cambio de una puntuación de 4 a una puntuación de 3, o un cambio de una puntuación de 4 a una

puntuación de 2, 1 o 0.

En algunas divulgaciones, el corticoesteroide se proporciona en una dosis terapéuticamente eficaz. La concentración terapéuticamente eficaz puede determinarse empíricamente mediante ensayos en sistemas conocidos *in vitro* o *in vivo* (por ejemplo, modelo en animal). Por ejemplo, la cantidad de un corticoesteroide seleccionado que ha de administrarse para mejorar los síntomas o efectos adversos de una toxicidad a una inmunoterapia y/o una terapia celular, tal como SLC o neurotoxicidad, puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. Además, pueden emplearse modelos en animales para ayudar a identificar los intervalos óptimos de dosificación. La dosificación precisa, que puede determinarse empíricamente, puede depender de la preparación terapéutica particular, la pauta y el esquema de dosificación, la vía de administración y la gravedad de la enfermedad.

El corticoesteroide puede administrarse en cualquier cantidad que sea eficaz para mejorar uno o más síntomas asociados a la toxicidad, tal como con la SLC o neurotoxicidad. El corticoesteroide, por ejemplo, glucocorticoide, puede administrarse, por ejemplo, en una cantidad de entre exactamente o aproximadamente 0,1 y 100 mg, por dosis, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 80 mg, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 60 mg, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 40 mg, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 30 mg, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 20 mg, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 15 mg, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 10 mg, exactamente o aproximadamente 0,1 y exactamente o aproximadamente 5 mg, exactamente o aproximadamente 0,2 y exactamente o aproximadamente 40 mg, exactamente o aproximadamente 0,2 y exactamente o aproximadamente 30 mg, exactamente o aproximadamente 0,2 y exactamente o aproximadamente 20 mg, exactamente o aproximadamente 0,2 y exactamente o aproximadamente 15 mg, exactamente o aproximadamente 0,2 y exactamente o aproximadamente 10 mg, exactamente o aproximadamente 0,2 y exactamente o aproximadamente 5 mg, exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 40 mg, exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 30 mg, exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 20 mg, exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 15 mg, exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 10 mg, exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 5 mg, exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 4 mg, exactamente o aproximadamente 1 y exactamente o aproximadamente 20 mg, exactamente o aproximadamente 1 y exactamente o aproximadamente 15 mg o 1 y exactamente o aproximadamente 10 mg, a un sujeto humano adulto de 70 kg. Normalmente, el corticoesteroide, tal como un glucocorticoide, se administra en una cantidad de entre exactamente o aproximadamente 0,4 y exactamente o aproximadamente 20 mg, por ejemplo, exactamente o aproximadamente 0,4 mg, 0,5 mg, 0,6 mg, 0,7 mg, 0,75 mg, 0,8 mg, 0,9 mg, 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 14 mg, 15 mg, 16 mg, 17 mg, 18 mg, 19 mg o 20 mg por dosis, a un sujeto humano adulto promedio.

En algunas divulgaciones, el corticoesteroide puede administrarse, por ejemplo, a una dosificación de exactamente o aproximadamente 0,001 mg/kg (del sujeto), 0,002 mg/kg, 0,003 mg/kg, 0,004 mg/kg, 0,005 mg/kg, 0,006 mg/kg, 0,007 mg/kg, 0,008 mg/kg, 0,009 mg/kg, 0,01 mg/kg, 0,015 mg/kg, 0,02 mg/kg, 0,025 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,035 mg/kg, 0,04 mg/kg, 0,045 mg/kg, 0,05 mg/kg, 0,055 mg/kg, 0,06 mg/kg, 0,065 mg/kg, 0,07 mg/kg, 0,075 mg/kg, 0,08 mg/kg, 0,085 mg/kg, 0,09 mg/kg, 0,095 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,15 mg/kg, 0,2 mg/kg, 0,25 mg/kg, 0,30 mg/kg, 0,35 mg/kg, 0,40 mg/kg, 0,45 mg/kg, 0,50 mg/kg, 0,55 mg/kg, 0,60 mg/kg, 0,65 mg/kg, 0,70 mg/kg, 0,75 mg/kg, 0,80 mg/kg, 0,85 mg/kg, 0,90 mg/kg, 0,95 mg/kg, 1 mg/kg, 1,05 mg/kg, 1,1 mg/kg, 1,15 mg/kg, 1,20 mg/kg, 1,25 mg/kg, 1,3 mg/kg, 1,35 mg/kg o 1,4 mg/kg, a un sujeto humano adulto promedio, normalmente que pesa de aproximadamente 70 kg a 75 kg.

El corticoesteroide, o glucocorticoide, por ejemplo, dexametasona, puede administrarse por vía oral (comprimidos, líquido o concentrado líquido), VO, por vía intravenosa (IV), por vía intramuscular o por cualquier otra vía conocida o vía que se describe en el presente documento (por ejemplo, con respecto a formulaciones farmacéuticas). En algunas divulgaciones, el corticoesteroide se administra en forma de un bolo y, en otras divulgaciones, puede administrarse durante un período de tiempo.

En algunas divulgaciones, el glucocorticoide puede administrarse durante un período de más de un día, tal como durante dos días, durante 3 días o durante 4 o más días. En algunas divulgaciones, el corticoesteroide puede administrarse una vez al día, dos veces al día, o tres veces o más al día. Por ejemplo, el corticoesteroide, por ejemplo, dexametasona, en algunas divulgaciones puede administrarse a 10 mg (o equivalente) IV dos veces al día durante tres días.

En algunas divulgaciones, la dosificación de corticoesteroide, por ejemplo, glucocorticoide, se administra en dosis sucesivamente más bajas por tratamiento. Por lo tanto, en algunos de dichas pautas de tratamiento, la dosis de corticoesteroide se reduce gradualmente. Por ejemplo, el corticoesteroide puede administrarse a una dosis inicial (o dosis equivalente, tal como con referencia a la dexametasona) de 4 mg, y tras cada administración sucesiva la dosis puede reducirse, de manera que la dosis sea de 3 mg para la siguiente administración, 2 mg para la siguiente administración y 1 mg para la siguiente administración

En general, la dosis de corticoesteroide administrada depende del corticoesteroide específico, ya que existe una diferencia en la potencia entre diferentes corticoesteroides. Por lo general, se entiende que los fármacos varían en potencia y que, por lo tanto, las dosis pueden variar, con el fin de obtener efectos equivalentes. La **Tabla** 8 muestra la equivalencia en términos de potencia para diversos glucocorticoides y vías de administración. La potencia equivalente en la dosificación clínica es bien conocida. Puede encontrarse información relacionada con la dosificación de esteroides equivalente (de una manera no cronoterapéutica) en el Formulario Nacional Británico (BNF, por sus siglas en inglés) 37, Marzo de 1999.

Tabla 8: Administración de glucocorticoides	
Glucocorticoide (Vía)	**Potencia de equivalencia**
Hidrocortisona (IV o VO)	20
Prednisona	5
Prednisolona (IV o VO)	5
Succinato sódico de metilprednisolona (IV)	4
Dexametasona (IV o VO)	0,5-0,75

Por lo tanto, en algunas divulgaciones, el esteroide se administra en una cantidad de dosificación equivalente de desde o desde aproximadamente 1,0 mg hasta o hasta aproximadamente 20 mg de dexametasona por día, tal como desde o desde aproximadamente 1,0 mg hasta o hasta aproximadamente 15 mg de dexametasona por día, desde o desde aproximadamente 1,0 mg hasta o hasta aproximadamente 10 mg de dexametasona por día, desde o desde aproximadamente 2,0 mg hasta o hasta aproximadamente 8 mg de dexametasona por día, o desde o desde aproximadamente 2,0 mg hasta o hasta aproximadamente 6,0 mg de dexametasona por día, cada uno inclusive. En algunos casos, el esteroide se administra en una dosis equivalente de aproximadamente 4 mg o aproximadamente 8 mg de dexametasona por día.

En algunas divulgaciones, el esteroide se administra si la fiebre persiste después del tratamiento con tocilizumab. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, la dexametasona se administra por vía oral o por vía intravenosa a una dosis de 5-10 mg hasta cada 6-12 horas con fiebre continua. En algunas divulgaciones, el tocilizumab se administra simultáneamente con o después de la suplementación con oxígeno.

B. Inhibidor de células microgliales

En algunas divulgaciones, el inhibidor en la terapia de combinación es un inhibidor de la actividad de una célula microglial. En algunas divulgaciones, la administración del inhibidor modula la actividad de la microglía. En algunas divulgaciones, el inhibidor es un antagonista que inhibe la actividad de una vía de señalización en la microglía. En algunas divulgaciones, el inhibidor de microglía afecta a la homeostasis, supervivencia y/o proliferación microgliales. En algunas divulgaciones, el inhibidor se dirige a la vía de señalización de CSF1R. En algunas divulgaciones, el inhibidor es un inhibidor de CSF1R. En algunas divulgaciones, el inhibidor es una molécula pequeña. En algunos casos, el inhibidor es un anticuerpo.

En algunas divulgaciones, la administración del inhibidor da como resultado uno o más efectos seleccionados de una alteración en la homeostasis y la viabilidad microgliales, una disminución o bloqueo de la proliferación de las células microgliales, una reducción o eliminación de las células microgliales, una reducción de la activación microglial, una reducción de la producción de óxido nítrico a partir de la microglía, una reducción de la actividad de la óxido nítrico sintasa en la microglía, o la protección de las neuronas motoras afectadas por la activación microglial. En algunas divulgaciones, el agente altera el nivel de un biomarcador sérico o sanguíneo de la inhibición de CSF1R, o una disminución en el nivel de N-telopéptido (NTX) reticulado de tipo 1 de colágeno urinario en comparación con un momento justo antes del inicio de la administración del inhibidor. En algunas divulgaciones, la administración del agente inhibe transitoriamente la actividad de la microglía y/o en donde la inhibición de la actividad de la microglía no es permanente. En algunas divulgaciones, la administración del agente inhibe transitoriamente la actividad de CSF1R y/o en donde la inhibición de la actividad de CSF1R no es permanente.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es una molécula pequeña, péptido, proteína, anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, un mimético de anticuerpo, un aptámero o una molécula de ácido nucleico. En algunas divulgaciones, el método implica la administración de un inhibidor de la actividad de la microglía. En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista que inhibe la actividad de una vía de señalización en la microglía. En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales afecta a la homeostasis, supervivencia y/o proliferación microgliales.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales se selecciona de un agente antiinflamatorio, un inhibidor de la NADPH oxidasa (NOX2), un bloqueante de los canales de calcio, un bloqueante de los canales de sodio, inhibe GM-CSF, inhibe CSF1R, se une específicamente a CSF-1, se une específicamente a IL-34, inhibe la activación del factor nuclear kappa B (NF-κB), activa un receptor de CB_2 y/o es un agonista de CB_2, un inhibidor de fosfodiesterasa, inhibe microARN-155 (miR-155), regula positivamente microARN-124 (miR-124),

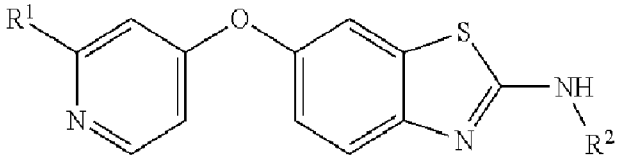
inhibe la producción de óxido nítrico en la microglía, inhibe la óxido nítrico sintasa o activa el factor de transcripción NRF2 (también denominado factor nuclear (derivado de eritroide 2) similar a 2, o NFE2L2).

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales se dirige a CSF1 (también denominado factor estimulante de colonias de macrófagos MCSF). En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales afecta a la fosforilación estimulada por MCSF del receptor de M-CSF (Pryer *et al. Proc Am Assoc Cancer Res*, Resumen de AACR N.º DDT02-2 (2009)). En algunos casos, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es MCS110 (Publicación de Solicitud de Patente Internacional número WO2014001802; N.º de registro de estudio de ensayo clínico: A1 NCT00757757; NCT02807844; NCT02435680; NCT01643850).

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es una molécula pequeña que se dirige a la vía de CSF1. En algunas divulgaciones, el agente es una molécula pequeña que se une a CSF1R. En algunas divulgaciones, el agente es una molécula pequeña que inhibe la actividad de la cinasa CSF1R compitiendo con la unión de ATP a la cinasa CSF1R. En algunas divulgaciones, el agente es una molécula pequeña que inhibe la activación del receptor de CFS1R. En algunos casos, la unión del ligando de CSF-1 al CSF1R se inhibe. En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es cualquiera de los inhibidores que se describen en el Número de Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. US20160032248.

En algunas divulgaciones, el agente es un inhibidor de molécula pequeña seleccionado de PLX-3397, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, PLX73086 (AC-708), DCC-3014, AZD6495, GW2580, Ki20227, BLZ945, PLX647, PLX5622. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los inhibidores que se describen en Conway *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(44):16078-83 (2005); Dagher *et al.*, *Journal of Neuroinflammation*, 12:139 (2015); Ohno *et al.*, *Mol Cancer Ther.* 5(11):2634-43 (2006); von Tresckow *et al. Clin Cancer Res.*,21(8) (2015); Manthey *et al. Mol Cancer Ther.* (8(11):3151-61 (2009); Pyonteck *et al., Nat Med.* 19(10): 1264-1272 (2013); Haegel *et al.*, Resumen de *Cancer Res AACR* N.º 288 (2015); Smith *et al.*, Resumen de *Cancer Res AACR* N.º 4889 (2016); N.º de registro de estudio de ensayo clínico: NCT01525602; NCT02734433; NCT02777710; NCT01804530; NCT01597739; NCT01572519; NCT01054014; NCT01316822; NCT02880371; NCT02673736; las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional números WO2008063888A2, WO2006009755A2, números de publicación de solicitud de patente de los EE.UU. US20110044998, US 2014/0065141 y US 2015/0119267.

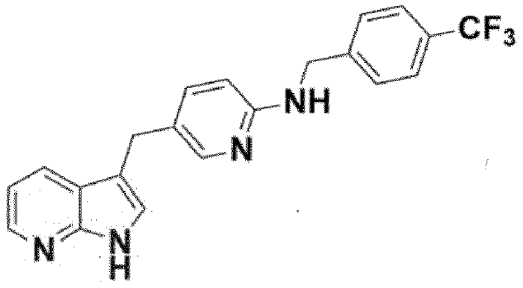
En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es 4-((2-(((1R,2R)-2-hidroxiciclohexil)amino)benzo[d]tiazol-6-il)oxi)-N-metilpicolinamida (BLZ945) o una sal aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



en donde R1 es un alquil pirazol o una alquil carboxamida, y R2 es un hidroxicicloalquilo

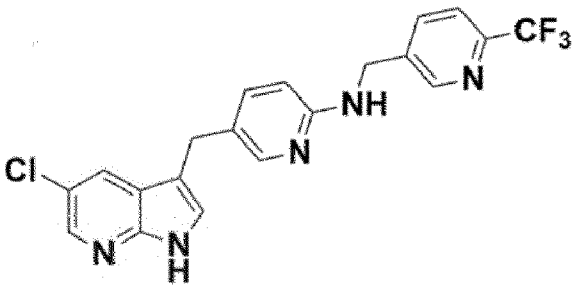
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es 5-((5-cloro-1H-pirrolo [2,3-b]piridin-3-il)metil)-N-((6-(trifluorometil)piridin-3-il) metil)piridin-2-amina, N-[5-[(5-Cloro-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-il)metil]-2-piridinil]-6-(trifluorometil)-3-piridinmetanamina) (PLX 3397) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es diclorhidrato de 5-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-3-ilmetil)-N-[[4-(trifluorometil)fenil]metil]-2-piridinamina (PLX647) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es el siguiente compuesto:



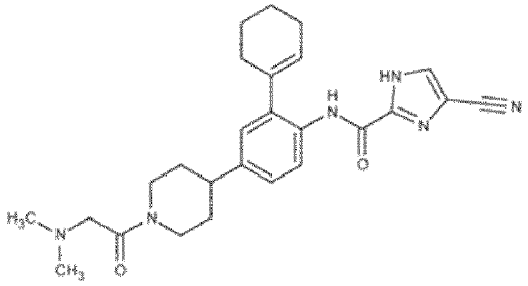
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de

las células microgliales es el siguiente compuesto:



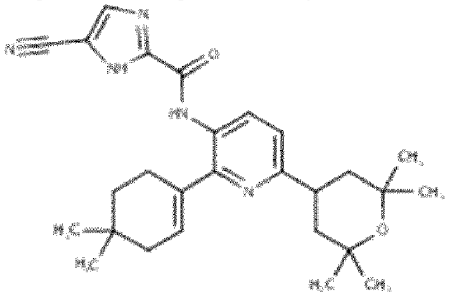
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los inhibidores que se describen en la patente de los EE.UU. número US7893075.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es monoclorhidrato de 4-ciano-N-[2-(1-ciclohexen-1-il)-4-[1-[(dimetilamino)acetil]-4-piperidinil]fenil]-1H-imidazol-2-carboxamida (JNJ28312141) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o derivados del mismo. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



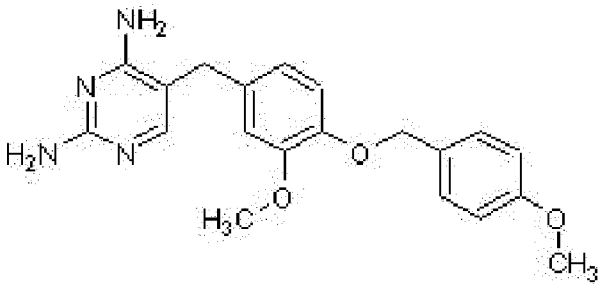
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los inhibidores que se describen en la patente de los EE.UU. número US7645755.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es 1H-imidazol-2-carboxamida, 5-ciano-N-(2-(4,4-dimetil-1-ciclohexen-1-il)-6-(tetrahidro-2,2,6,6-tetrametil-2H-piran-4-il)-3-piridinil)-, ácido 4-ciano-1H-imidazol-2-carboxílico N-(2-(4,4-dimetilciclohex-1-enil)-6-(2,2,6,6-tetrametiltetrahidropiran-4-il)piridin-3-il)amida, 4-ciano-N-(2-(4,4-dimetilciclohex-1-en-1-il)-6-(2,2,6,6-tetrametil-tetrahidro-2H-piran-4-il)piridin-3-il)-1H-imidazol-2-carboxamida (JNJ-40346527) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



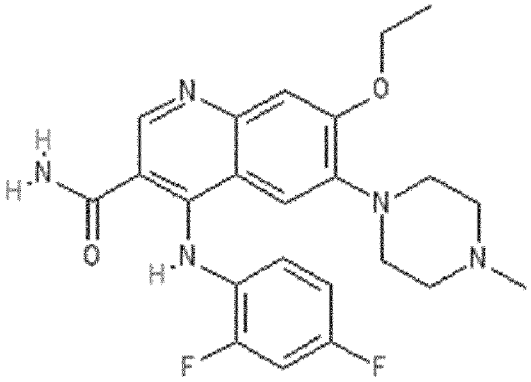
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra divulgación, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es 5-(3-metoxi-4-((4-metoxibencil)oxi)bencil)pirimidina-2,4-diamina (GW2580) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



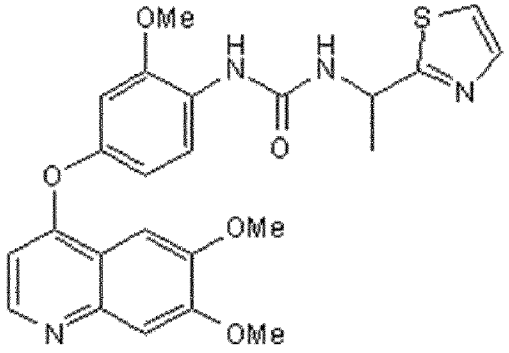
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (Publicación de Solicitud de Patente Internacional número WO2009099553).

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es 4-(2,4-difluoroanilino)-7-etoxi-6-(4-metilpiperazin-1-il)quinolina-3-carboxamida (AZD6495) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la actividad de las células microgliales es N-{4-[(6,7-dimetoxi-4-quinolil)oxi]-2-metoxifenil}-N0-[1-(1,3-tiazol-2-il)etil]urea (Ki20227) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es un anticuerpo que se dirige a la vía de CSF1. En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que se une a CSF1R. En algunas divulgaciones, el anticuerpo anti-CSF1R bloquea la dimerización de CSF1R. En algunas divulgaciones, el anticuerpo anti-CSF1R bloquea la interfaz de dimerización de CSF1R que está formada por los dominios D4 y D5 (Ries *et al.* *Cancer Cell* 25(6):846--59 (2014)). En algunos casos, el agente se selecciona de emactuzumab (RG7155; RO5509554), Cabiralizumab (FPA-008), LY-3022855 (IMC-CS4), AMG-820, TG-3003, MCS110, H27K15, 12-2D6, 2-4A5 (Rovida y Sbarba, J Clin Cell Immunol. 6:6 (2015); N.º de registro de estudio de ensayo clínico: NCT02760797; NCT01494688; NCT02323191; NCT01962337; NCT02471716; NCT02526017; NCT01346358; NCT02265536; NCT01444404; NCT02713529, NCT00757757; NCT02807844; NCT02435680; NCT01643850).

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es un antibiótico de tetraciclina. Por ejemplo, el agente afecta a la concentración de IL-1b, IL-6, TNF-α o iNOS en células de la microglía

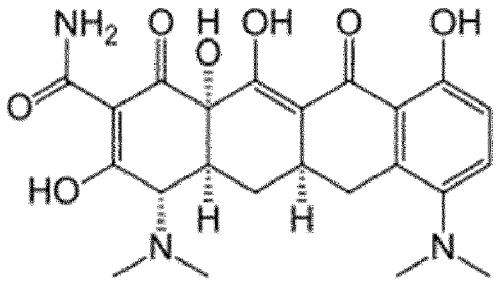
(Yrjänheikki *et al. PNAS* 95(26): 15769-15774 (1998); N.º de registro de estudio de ensayo clínico: NCT01120899). En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista opioide (Younger *et al. Pain Med.* 10(4):663-672 (2009.) En algunas divulgaciones, el agente reduce la neurotransmisión glutamatérgica (Número de patente de los EE.UU. 5.527.814). En algunas divulgaciones, el agente modula la señalización de NFkB (Valera *et al. J. Neuroinflammation* 12:93 (2015); N.º de registro de estudio de ensayo clínico: NCT00231140). En algunas divulgaciones, el agente se dirige a los receptores de cannabinoides (Ramírez et al. J. Neurosci 25(8): 1904-13(2005)). En algunas divulgaciones, el agente se selecciona de minociclina, naloxona, riluzol, lenalidomida y un cannabinoide (opcionalmente WIN55 o 212-2).

Se cree que la producción de óxido nítrico a partir de la microglía, en algunos casos, da como resultado o aumenta la neurotoxicidad. En algunas divulgaciones, el agente modula o inhibe la producción de óxido nítrico a partir de la microglía. En algunas divulgaciones, el agente inhibe la óxido nítrico sintasa (NOS). En algunas divulgaciones, el inhibidor de NOS es la Ronopterina (VAS-203), también conocida como 4-amino-tetrahidrobiopterina (4-ABH4). En algunas divulgaciones, el inhibidor de NOS es cindunistat, A-84643, ONO-1714, L-NOARG, NCX-456, VAS-2381, GW-273629, NXN-462, CKD-712, KD-7040 o disulfuro de guanidinoetilo. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los inhibidores que se describen en Höing et al., *Cell Stem Cell*. 2 de noviembre de 2012; 11(5):620-32.

En algunas divulgaciones, el agente bloquea el tráfico de linfocitos T, tal como al sistema nervioso central. En algunas divulgaciones, bloquear el tráfico de linfocitos T puede reducir o evitar que las células inmunitarias crucen las paredes de los vasos sanguíneos hacia el sistema nervioso central, incluyendo que crucen la barrera hematoencefálica. En algunos casos, los linfocitos T específicos de antígeno activados producen citocinas proinflamatorias, incluyendo IFN-γ y TNF, tras la reactivación en el SNC, lo que conduce a la activación de células residentes tales como microglía y astrocitos. Véase Kivisäkk *et al.*, *Neurology*. 2 De junio de 2009; 72(22): 1922-1930. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, secuestrar linfocitos T activados de las células microgliales, tal como bloqueando el tráfico y/o inhibiendo la capacidad de dichas células para cruzar la barrera hematoencefálica, puede reducir o eliminar la activación microglial. En algunas divulgaciones, el agente inhibe las moléculas de adhesión en células inmunitarias, incluyendo los linfocitos T. En algunas divulgaciones, el agente inhibe una integrina. En algunas divulgaciones, la integrina es la integrina alfa-4. En algunas divulgaciones, el agente es natalizumab (Tysabri®). En algunas divulgaciones, el agente modula un receptor de superficie celular. En algunas divulgaciones, el agente modula el receptor de esfingosina-1-fosfato (S1P), tal como S1PR1 o S1PR5. En algunas divulgaciones, el agente provoca la internalización de un receptor celular, tal como un receptor de esfingosina-1-fosfato (S1P), tal como S1PR1 o S1PR5. En algunas divulgaciones, el agente es fingolimod (Gilenya®) u ozanimod (RPC-1063).

Se cree que el factor de transcripción NRF2 regula la respuesta antioxidante, por ejemplo, activando genes que contienen un elemento que actúa en cis en su región promotora. Un ejemplo de un elemento de este tipo incluye un elemento de respuesta antioxidante (ARE, por sus siglas en inglés). En algunas divulgaciones, el agente activa NRF2. En algunas divulgaciones, activar NRF2 en las células microgliales reduce la capacidad de respuesta de las células microgliales a IFN y LPS. En algunas divulgaciones, la activación de NRF2 inhibe, ralentiza o reduce la desmielinización, la pérdida axonal, la muerte neuronal y/o la muerte de oligodendrocitos. En algunas divulgaciones, el agente regula positivamente la vía citoprotectora celular regulada por NRF2. En algunas divulgaciones, el agente que activa NRF2 es fumarato de dimetilo (Tecfidera®). En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los inhibidores que se describen en la patente de los EE.UU. número 8.399.514. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los inhibidores que se describen en Höing et al., *Cell Stem Cell*. 2 de noviembre de 2012; 11(5):620-32.

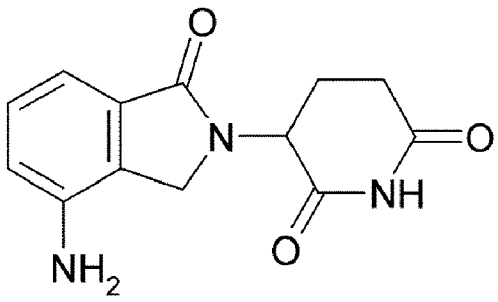
En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es (4S,4aS,5aR,12aS)-4,7-bis(dimetilamino)-3,10,12,12a-tetrahidroxi-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahidrotetraceno-2-carboxamida (minociclina) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los compuestos que se describen en la publicación de solicitud de patente de los EE.UU. Número US20100190755. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

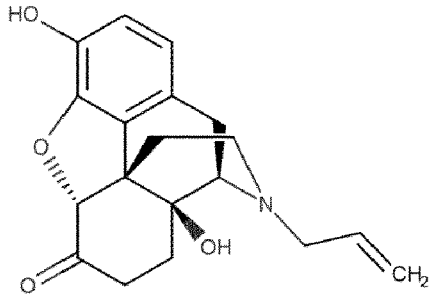
En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es 3-(7-amino-3-oxo-1H-

isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona (lenalidomida) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



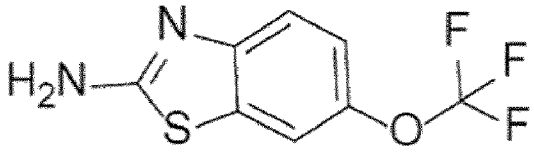
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es 4R,4aS,7aR,12bS)-4a,9-dihidroxi-3-prop-2-enil-2,4,5,6,7a,13-hexahidro-1H-4,12-metanobenzofuro[3,2-e]isoquinolin-7-ona (naloxona) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o derivados de la misma. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los compuestos que se describen en la patente de los EE.UU. número US8247425. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

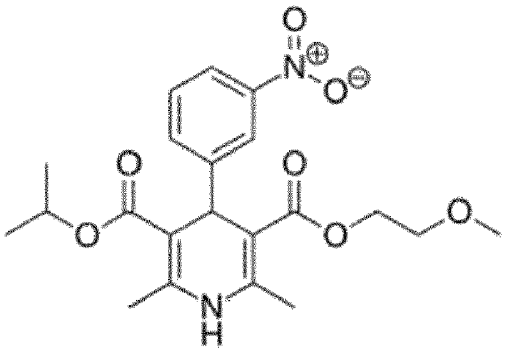
En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es 2-amino-6-(trifluorometoxi)benzotiazol, 6-(trifluorometoxi)benzo[d]tiazol-2-amina o 6-(trifluorometoxi)-1,3-benzotiazol-2-amina (riluzol) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos o derivados de los mismos como se describe en la patente de los EE.UU. número US5527814. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es un modulador de una vía de señalización en la microglía. En algunos casos, el agente reduce la señalización de la microglía. En algunas divulgaciones, el agente es un inhibidor de GM-CSF (CSF2). En otras divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es un bloqueante de los canales iónicos. En algunas divulgaciones específicas, el agente es un bloqueante de los canales de calcio. Por ejemplo, en algunas divulgaciones específicas, el agente es un bloqueante de los canales de calcio de dihidropiridina. En algunas divulgaciones, el agente es un inhibidor del microARN. Por ejemplo, el agente se dirige a miR-155. En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales se selecciona de MOR103, Nimodipino, IVIg y LNA-anti-miR-155 (Butoxsky *et al. Ann Neurol.*, 77(1):75-99 (2015) y Sanz *et al.*, *Br J Pharmacol.* 167(8): 1702-1711 (2012); Winter *et al.*, *Ann Clin and Transl Neurol.* 2328-9503 (2016); N.º de registro de estudio de ensayo clínico: NCT01517282, NCT00750867).

En algunas divulgaciones, el agente que reduce la activación de las células microgliales es 2,6-dimetil-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato de 3-(2-metoxietilo) y 5-propan-2-ilo (nimodipino) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o derivados del mismo. En algunas divulgaciones, el agente es cualquiera de los inhibidores que se describen en la patente de los EE.UU. número US3799934. En algunas divulgaciones, el agente es el siguiente compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunos casos, el agente que reduce la activación de las células microgliales se administra en una forma que sólo afecta al sistema nervioso central y/o no afecta a los macrófagos asociados a tumores. En algunas divulgaciones, el agente promueve la quiescencia de la microglía pero no elimina ni reduce el número de microglía. En algunas divulgaciones, el método implica inhibir la actividad de la microglía específicamente en el cerebro, tal como se describe en Ponomarev *et al.*, *Nature Medicine*, (1):64-70 (2011)

Se exponen agentes de ejemplo que reducen la activación de las células microgliales y pautas posológicas de ejemplo para administrar dichos agentes, en la **Tabla 9** a continuación.

Tabla 9. Inhibidores de microglía y pautas posológicas de ejemplo

Inhibidor de ejemplo	**Tipo de molécula**	**Diana o dianas moleculares**	**Pauta o pautas posológicas de ejemplo**
Pexidartinib (PLX3397)	molécula pequeña	CSF1R; c-Kit; FLT3	comprimidos de 200 mg, dos veces al día durante 28 días; Administrar diariamente como pauta posológica dividida, cinco niveles de dosis posibles en la parte de aumento a escala de dosis: 400 mg 5 días con 2 días de descanso (esquema intermitente), 400 mg, 600 mg, 800 mg o 1000 mg; 1000 mg/día durante 2 semanas y después 800 mg/día durante 22 semanas
Emactuzumab (RG1755; RO5509554)	anticuerpo monoclonal	CSF1R	100-3000 mg una vez cada 2 semanas
Cabiralizumab (FPA-008)	anticuerpo	CSF1R	Infusión intravenosa durante 30 minutos cada 2 semanas
LY-3022855 (IMC-CS4)	anticuerpo monoclonal	CSF1R	Suministro intravenoso de 1,25 mg/kg cada 2 semanas durante 6 semanas
JNJ-40346527	molécula pequeña	CSF1R	100 mg dos veces al día durante 12 semanas; cápsula de 100-1000 mg diariamente
MCS110	anticuerpo	MCSF (CSF1)	Hasta 4 dosis de MCS110 10 mg/kg administradas por vía intravenosa una vez cada 4 semanas a partir del Día 1
MOR103	anticuerpo	GM-CSF	6 dosis de 0,5-2,0 mg/kg durante 70 días
IVIg	inmunoglobulina	Desconocido	Infusión intravenosa de 0,4 g/kg cada mes durante 6 meses
Minociclina	molécula pequeña	antibiótico de amplio espectro: IL-1b; IL-6, TNF-a; iNOS	Dosis oral de 100 mg de minociclina dos veces al día durante 24 meses
Naloxona	molécula pequeña	Receptores de opioides	Cápsulas de clorhidrato de naltrexona de 4,5 mg una vez/día durante 8 semanas
Lenalidomida/talidomida	molécula pequeña	Señalización de NFkB	100-400 mg diarios

(continuación)

Tabla 9. Inhibidores de microglía y pautas posológicas de ejemplo			
Inhibidor de ejemplo	**Tipo de molécula**	**Diana o dianas moleculares**	**Pauta o pautas posológicas de ejemplo**
Riluzol	molécula pequeña	Liberación de glutamato por microglía	50 mg dos veces al día
Cannabinoides/cannabidiol (por ejemplo, WIN55,212-2)	molécula pequeña	receptores de cannabinoides	Por vía oral 10 mg/kg/día durante 6 semanas (promedio de 700 mg/día)
Fumarato de dimetilo (Tecfidera®).	molécula pequeña	Señalización de Nrf2	Dosis inicial de 120 mg tomada por vía oral dos veces/día durante 7 días. La dosis aumentó a 240 mg tomados por vía oral dos veces/día a partir de entonces
natalizumab (Tysabri®)	anticuerpo	alfa-4 integrina	300 mg infundidos por vía intravenosa durante una hora, cada cuatro semanas
fingolimod (Gilenya®)	molécula pequeña	receptores de S1P, incluyendo S1PR1	0,5 mg por vía oral una vez al día
ozanimod (RPC-1063)	molécula pequeña	S1PR1 y S1PR5	0,25 mg, 0,5 mg o 1 mg una vez al día

C. Otros agentes (p. ej., agentes de direccionamiento de citocinas)

En algunas divulgaciones, el agente, por ejemplo, agente dirigido a la toxicidad, que trata o mejora los síntomas de una toxicidad de inmunoterapia y/o una terapia celular, tal como SLC o neurotoxicidad, es uno que se dirige a una citocina, por ejemplo, es un antagonista o inhibidor de una citocina, tal como factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), interleucina 6 (IL-6), interleucina 10 (IL-10), IL-2, MIP1β (CCL4), TNF alfa, IL-1, interferón gamma (IFN-gamma) o proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1). En algunas divulgaciones, el agente que trata o mejora los síntomas de una toxicidad de una inmunoterapia y/o una terapia celular, tal como SLC o neurotoxicidad, es uno que se dirige (por ejemplo, inhibe o es un antagonista de) un receptor de citocinas, tal como receptor de IL-6 (IL-6R), receptor de IL-2 (IL-2R/CD25), receptor de MCP-1 (CCL2) (CCR2 o CCR4), un receptor de TGF-beta (TGF-beta I, II o III), receptor de IFN-gamma (IFNGR), receptor de MIP1β (por ejemplo, CCR5), receptor de TNF alfa (por ejemplo, TNFR1), receptor de IL-1 (IL1-Rα/IL-1Rβ) o receptor de IL-10 (IL-10R).

La cantidad de un agente seleccionado que trata o mejora los síntomas de una toxicidad de una inmunoterapia y/o una terapia celular, tal como SLC o neurotoxicidad que ha de administrarse para mejorar los síntomas o efectos adversos de una toxicidad a una inmunoterapia y/o una terapia celular, tal como SLC o neurotoxicidad, puede determinarse mediante técnicas clínicas convencionales. Los acontecimientos adversos de ejemplo incluyen, pero sin limitación, un aumento de la alanina aminotransferasa, un aumento de la aspartato aminotransferasa, escalofríos, neutropenia febril, cefalea, hipotensión, disfunción del ventrículo izquierdo, encefalopatía, hidrocefalia, crisis epiléptica y/o temblor.

En algunas divulgaciones, el agente se administra en una cantidad de dosificación de desde o desde aproximadamente 30 mg hasta o hasta aproximadamente 5000 mg, tal como desde o desde aproximadamente 50 mg hasta o hasta aproximadamente 1000 mg, desde o desde aproximadamente 50 mg hasta o hasta aproximadamente 500 mg, desde o desde aproximadamente 50 mg hasta o hasta aproximadamente 200 mg, desde o desde aproximadamente 50 mg hasta o hasta aproximadamente 100 mg, desde o desde aproximadamente 100 mg hasta o hasta aproximadamente 1000 mg, desde o desde aproximadamente 100 mg hasta o hasta aproximadamente 500 mg, desde o desde aproximadamente 100 mg hasta o hasta aproximadamente 200 mg, desde o desde aproximadamente 200 mg hasta o hasta aproximadamente 1000 mg, desde o desde aproximadamente 200 mg hasta o hasta aproximadamente 500 mg o 500 mg hasta o hasta aproximadamente 1000 mg.

En algunas divulgaciones, el agente se administra desde o desde aproximadamente 0,5 mg/kg a 100 mg/kg, tal como desde o desde aproximadamente 1 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 50 mg/kg, desde o desde aproximadamente 1 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 25 mg/kg, desde o desde aproximadamente 1 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 10 mg/kg, desde o desde aproximadamente 1 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 5 mg/kg, desde o desde aproximadamente 5 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 100 mg/kg, desde o desde aproximadamente 5 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 50 mg/kg, desde o desde aproximadamente 5 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 25 mg/kg, desde o desde aproximadamente 5 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 10 mg/kg, desde o desde aproximadamente 10 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 100 mg/kg, desde o desde aproximadamente 10 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 50

mg/kg, desde o desde aproximadamente 10 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 25 mg/kg, desde o desde aproximadamente 25 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 100 mg/kg, desde o desde aproximadamente 25 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 50 mg/kg o desde o desde aproximadamente 50 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 100 mg/kg. En algunas divulgaciones, el agente se administra en una cantidad de dosificación de desde o desde aproximadamente 1 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 10 mg/kg, desde o desde aproximadamente 2 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 8 mg/kg, desde o desde aproximadamente 2 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 6 mg/kg, desde o desde aproximadamente 2 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 4 mg/kg o 6 mg/kg hasta o hasta aproximadamente 8 mg/kg, cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, el agente se administra en una cantidad de dosificación de al menos o al menos aproximadamente o aproximadamente 1 mg/kg, 2 mg/kg, 4 mg/kg, 6 mg/kg, 8 mg/kg, 10 mg/kg o más. En algunas divulgaciones, el agente se administra a una dosis de 4 mg/kg u 8 mg/kg.

En algunas divulgaciones, el agente se administra mediante inyección, por ejemplo, inyecciones intravenosas o subcutáneas, inyección intraocular, inyección periocular, inyección subretiniana, inyección intravítrea, inyección trans-septal, inyección subescleral, inyección intracoroidal, inyección intracameral, inyección subconjuntival, inyección subconjuntival, inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección peribulbar o suministro yuxtaescleral posterior. En algunas divulgaciones, se administran por vía parenteral, por vía intrapulmonar e intranasal, y, si se desea para un tratamiento local, administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea.

En algunas divulgaciones, la cantidad del agente se administra alrededor de o aproximadamente dos veces al día, diariamente, en días alternos, tres veces a la semana, semanalmente, en semanas alternas o una vez al mes.

En algunas divulgaciones, el agente se administra como parte de una composición o formulación, tal como una composición o formulación farmacéutica como se describe a continuación. Por lo tanto, en algunos casos, la composición que comprende el agente se administra como se describe a continuación. En otras divulgaciones, el agente se administra solo y puede administrarse por cualquier vía de administración aceptable conocida o por una que se describe en el presente documento, tal como con respecto a composiciones y formulaciones farmacéuticas.

En algunas divulgaciones, el agente que trata o mejora los síntomas de una toxicidad de la inmunoterapia y/o terapia celular, tal como SLC o neurotoxicidad, es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En algunas divulgaciones, el agente es tocilizumab, siltuximab, sarilumab, olokizumab (CDP6038), elsilimomab, ALD518/BMS-945429, sirukumab (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 o FM101.

En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de IL-6 o el receptor de IL-6 (IL-6R). En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que neutraliza la actividad de IL-6, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a IL-6 o IL-6R. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agente es o comprende tocilizumab (atlizumab) o sarilumab, anticuerpos anti-IL-6R. En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo anti-IL-6R que se describe en la Patente de los EE.UU. N.º: 8.562.991. En algunos casos, el agente que se dirige a la IL-6 es un anticuerpo anti-IL-6, tal como siltuximab, elsilimomab, ALD518/BMS-945429, sirukumab (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301, FM101 u olokizumab (CDP6038). En algunas divulgaciones, el agente puede neutralizar la actividad de IL-6 inhibiendo las interacciones ligando-receptor. La viabilidad de este tipo general de enfoque se ha demostrado con un antagonista de receptor de origen natural para interleucina-1. *Véase* Harmurn, C. H. *et al*., Nature (1990) 343:336-340. En algunas divulgaciones, el antagonista o inhibidor de IL-6/IL-6R es una muteína de IL-6, tal coma una descrita en la Patente de los EE.UU. N.º 5591827. En algunas divulgaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de IL-6/IL-6R es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, el agente es tocilizumab. En algunas divulgaciones, el tocilizumab se administra como una intervención temprana de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, a una dosificación de desde o de aproximadamente 1 mg/kg a 12 mg/kg, tal como exactamente o aproximadamente 4 mg/kg, 8 mg/kg o 10 mg/kg. En algunas divulgaciones, el tocilizumab se administra por infusión intravenosa. En algunas divulgaciones, se administra tocilizumab para una fiebre persistente de más de 39 °C que dura 10 horas que no responde al acetaminofeno. En algunas divulgaciones, se proporciona una segunda administración de tocilizumab si los síntomas reaparecen después de 48 horas de la dosis inicial.

En algunas divulgaciones, el agente es un agonista o estimulador de TGF-β o un receptor de TGF-β (por ejemplo, receptor I, II o III). En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que aumenta la actividad de TGF-β, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a TGF-β o uno de sus receptores. En algunas divulgaciones, el agente que es un agonista o estimulador de TGF-β y/o su receptor es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de MCP-1 (CCL2) o un receptor de MCP-1 (por ejemplo, receptor de MCP-1 CCR2 o CCR4). En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que neutraliza la actividad de MCP-1, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a MCP-1 o uno de sus receptores (CCR2 o CCR4). En algunas divulgaciones, el antagonista o inhibidor de MCP-1 es cualquiera que se

describe en Gong *et al. J Exp Med.* 7 de Julio de 1997; 186(1): 131-137 o Shahrara et al. J Immunol 2008; 180:3447-3456. En algunas divulgaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de MCP-1 y/o su receptor (CCR2 o CCR4) es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de IFN-γ o un receptor de IFN-γ (IFNGR). En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que neutraliza la actividad de IFN-γ, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a IFN-γ o su receptor (IFNGR). En algunas divulgaciones, el anticuerpo neutralizante de IFN-gamma es cualquiera que se describe en Dobber *et al. Cell Immunol.* Febrero de 1995; 160(2): 185-92 u Ozmen *et al. J. Immunol.* 1 de abril de 1993; 150(7):2698-705. En algunas divulgaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de IFN-γ/IFNGR es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de IL-10 o el receptor de IL-10 (IL-10R). En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que neutraliza la actividad de IL-10, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a IL-10 o IL-10R. En algunas divulgaciones, el anticuerpo neutralizante de IL-10 es cualquiera que se describe en Dobber *et al. Cell Immunol.* Febrero de 1995; 160(2):185-92 o Hunter *et al. J. Immunol.* 1 de junio de 2005; 174(11):7368-75. En algunas divulgaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de IL-10/IL-10R es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de IL-1 o el receptor de IL-1 (IL-1R). En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista del receptor de IL-1, que es una forma modificada de IL-1R, tal como anakinra (véase, por ejemplo, Fleischmann *et al.*, (2006) *Annals of the rheumatic diseases*. 65(8):1006-12). En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que neutraliza la actividad de IL-1, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a IL-1 o IL-1R, tal como canakinumab (véase también el documento EP 2277543). En algunas divulgaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de IL-1/IL-1R es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de un factor de necrosis tumoral (TNF) o un receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR). En algunas divulgaciones, el agente es un anticuerpo que bloquea la actividad de TNF, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une a un TNF, tal como TNFα, o su receptor (TNFR, por ejemplo, TNFRp55 o TNFRp75). En algunas divulgaciones, el agente se selecciona de entre infliximab, adalimumab, certolizumab pegol, golimumab y etanercept. En algunas divulgaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de TNF/TNFR es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico. En algunas divulgaciones, el agente es una molécula pequeña que afecta al TNF, tal como lenalidomida (véase, por ejemplo, Muller *et al.* (1999) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 9 (11):1625).

En algunas divulgaciones, el agente es un antagonista o inhibidor de la señalización a través de la cascada de señalización de la cinasa Janus (JAK) y dos de Transductor de señal y activador de la transcripción (STAT). Las proteínas JAK/STAT son componentes comunes de la señalización de citocinas y receptores de citocinas. En algunas divulgaciones, el agente que es un antagonista o inhibidor de JAK/STAT, tal como ruxolitinib (véase, por ejemplo, Mesa *et al.* (2012) *Nature Reviews Drug Discovery*. 11(2): 103-104), tofacitinib (también conocido como Xeljanz, Jakvinus tasocitinib y CP-690550), Baricitinib (también conocido como LY-3009104, INCB-28050), Filgotinib (G-146034, GLPG-0634), Gandotinib (LY-2784544), Lestaurtinib (CEP-701), Momelotinib (GS-0387, CYT-387), Pacritinib (SB1518) y Upadacitinib (ABT-494). En algunas divulgaciones, el agente es una molécula pequeña, una proteína o péptido, a un ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, el agente es un inhibidor de cinasas. En algunas divulgaciones, el agente es un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (BTK). En algunas divulgaciones, el inhibidor es o comprende ibrutinib o acalabrutinib (véase, por ejemplo, Barrett *et al.*, 58.ª Reunión Anual de ASH, San Diego, CA, 3-6 de diciembre de 2016, Resumen 654; Ruella *et al.*, 58.ª Reunión Anual de ASH, San Diego, CA, 3-6 de diciembre de 2016, Resumen 2159). En algunas divulgaciones, el agente es un inhibidor como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º 7.514.444; 8.008.309; 8.476.284; 8.497.277; 8.697.711; 8.703.780; 8.735.403; 8.754.090; 8.754.091; 8.957,079; 8.999.999; 9.125.889; 9.181.257; o 9.296.753.

En algunas divulgaciones, un dispositivo, como la tecnología de resina absorbente con filtración de sangre o plasma, puede usarse para reducir los niveles de citocinas. En algunas divulgaciones, el dispositivo utilizado para reducir los niveles de citocinas es un absorbedor de citocinas físico, tal como un absorbedor de citocinas extracorpóreo. En algunas divulgaciones, puede usarse un absorbedor de citocinas físico para eliminar las citocinas del torrente sanguíneo de una manera extracorpórea *ex vivo*. En algunas divulgaciones, el agente es un polímero poroso. En algunas divulgaciones, el agente es CytoSorb (véase, por ejemplo, Basu *et al. Indian J Crit Care Med.* (2014) 18(12): 822-824).

III. RECEPTORES DE ANTÍGENO RECOMBINANTES EXPRESADOS POR LAS CÉLULAS

En algunas divulgaciones, las células para su uso o administradas en relación con los métodos que se divulgan contienen o se modifican por ingeniería genética para contener un receptor modificado por ingeniería genética, por ejemplo, un receptor de antígeno modificado por ingeniería genética, tal como un receptor de antígeno quimérico

(CAR) o un receptor de linfocitos T (TCR). También se divulgan poblaciones de dichas células, composiciones que contienen dichas células y/o enriquecidas para dichas células, tal como en qué células de un determinado tipo, tal como linfocitos T o células $CD8^+$ o $CD4^+$ se enriquecen o seleccionan. Entre las composiciones se encuentran composiciones farmacéuticas y formulaciones para la administración, tal como para terapia celular adoptiva. También se divulgan métodos terapéuticos para administrar las células y composiciones a sujetos, por ejemplo, pacientes, de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan.

En algunas divulgaciones, las células incluyen uno o más ácidos nucleicos introducidos a través de ingeniería genética y, por lo tanto, expresan productos recombinantes o modificados genéticamente de dichos ácidos nucleicos. En algunas divulgaciones, la transferencia de genes se logra estimulando en primer lugar las células, tal como combinándolas con un estímulo que induce una respuesta tal como proliferación, supervivencia y/o activación, por ejemplo, medida por la expresión de una citocina o marcador de activación, seguido de la transducción de las células activadas y la expansión en cultivo a números suficientes para aplicaciones clínicas.

Las células generalmente expresan receptores recombinantes, tales como receptores de antígenos que incluyen receptores de antígenos no TCR funcionales, por ejemplo, receptores de antígenos quiméricos (CAR) y otros receptores de unión a antígeno tales como receptores de linfocitos T (TCR) transgénicos. También entre los receptores se encuentran otros receptores quiméricos.

A. Receptores de antígenos quiméricos (CAR)

En algunas divulgaciones de los métodos y usos divulgados, los receptores quiméricos, tales como un receptor de antígeno quimérico, contienen uno o más dominios que combinan un dominio de unión a ligando (por ejemplo, anticuerpo o fragmento de anticuerpo) que proporciona especificidad para un antígeno deseado (por ejemplo, antígeno tumoral) con dominios de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular es una porción de dominio intracelular estimulador o activador, tal como un dominio estimulador o activador de linfocitos T, que proporciona una señal de activación primaria o una señal primaria. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular contiene o contiene adicionalmente un dominio de señalización coestimuladora para facilitar las funciones efectoras. En algunas divulgaciones, los receptores quiméricos cuando se modifican genéticamente en células inmunitarias pueden modular la actividad de los linfocitos T y, en algunos casos, pueden modular la diferenciación u homeostasis de los linfocitos T, dando como resultado células modificadas genéticamente con una longevidad, una supervivencia y/o una persistencia *in vivo* mejoradas, tal como para su uso en métodos de terapia celular adoptiva.

Los receptores de antígenos de ejemplo, incluyendo los CAR, y los métodos para modificar por ingeniería genética e introducir dichos receptores en células, incluyen aquellos que se describen, por ejemplo, en las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional números WO200014257, WO2013126726, WO2012/129514, WO2014031687, WO2013/166321, WO2013/071154, WO2013/123061 las publicaciones de solicitud de patente de los EE.UU. números US2002131960, US2013287748, US20130149337, las Patentes de los EE.UU. N.º: 6.451.995, 7.446.190, 8.252.592, 8.339.645, 8398282, 7.446.179, 6.410.319, 7.070.995, 7.265.209, 7.354.762, 7.446.191,8.324.353 y 8.479.118, y el número de solicitud de patente europea EP2537416y/o aquellos que se describen en Sadelain *et al.*, *Cancer Discov.* Abril de 2013; 3(4): 388-398; Davila *et al.* (2013) *PLoS ONE* 8(4): e61338; Turtle *et al.*, *Curr. Opin. Immunol.*, Octubre de 2012; 24(5): 633-39; Wu *et al.*, *Cancer*, Marzo de 2012 18(2): 160-75. En algunas divulgaciones, los receptores de antígeno incluyen un CAR como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º: 7.446.190y aquellos que se describen en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional N.º: WO/2014055668 A1. Los ejemplos de los CAR incluyen los CAR como se divulgan en cualquiera de las publicaciones mencionadas anteriormente, tales como WO2014031687, US 8.339.645, US 7.446.179, US 2013/0149337, la Patente de los EE.UU. N.º: 7.446.190, la Patente de los EE. UU. N.º: 8.389.282, Kochenderfer *et al.*, 2013, *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10, 267-276 (2013); Wang *et al.* (2012) *J. Immunother.* 35(9): 689-701; y Brentjens *et al.*, *Sci Transl Med.* 2013 5(177). Véanse también lo documentos WO2014031687, US 8.339.645, US 7.446.179, US 2013/0149337, la Patente de los EE.UU. N.º: 7.446.190 y la Patente de los EE. UU. N.º: 8.389.282.

Los receptores quiméricos, tales como los CAR, generalmente incluyen un dominio de unión a antígeno extracelular, tal como una porción de una molécula de anticuerpo, generalmente una región de cadena pesada variable (V_H) y/o región de cadena ligera variable (V_L) del anticuerpo, por ejemplo, un fragmento de anticuerpo scFv.

En algunas divulgaciones, el antígeno dirigido por el receptor es un polipéptido. En algunas divulgaciones, es un hidrato de carbono u otra molécula. En algunas divulgaciones, el antígeno se expresa selectivamente o se sobreexpresa en células de la enfermedad o afección, por ejemplo, las células tumorales o patógenas, en comparación con células o tejidos normales o no dirigidos. En otras divulgaciones, el antígeno se expresa en células normales y/o se expresa en las células modificadas.

En algunas divulgaciones, el CAR se construye con una especificidad para un antígeno particular (o marcador o ligando), tal como un antígeno expresado en un tipo de célula particular al que se dirigirá la terapia adoptiva, p. ej., un marcador de cáncer y/o un antígeno destinado a inducir una respuesta amortiguadora, tal como un antígeno

expresado en un tipo de célula normal o no enferma. Por lo tanto, el CAR incluye normalmente en su porción extracelular una o más moléculas de unión a antígeno, tales como uno o más fragmentos de unión a antígeno, dominio, o porción, o uno o más dominios variables de anticuerpo, y/o moléculas de anticuerpo. En algunas divulgaciones, el CAR incluye una porción de unión a antígeno o porciones de una molécula de anticuerpo, tal como un fragmento de anticuerpo de cadena sencilla (scFv) derivo de las cadenas pesada variable (V_H) y ligera variable (V_L) de un anticuerpo monoclonal (Acm).

En algunas divulgaciones, el anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo se expresa en células como parte de un receptor recombinante, tal como un receptor de antígeno. Entre los receptores de antígenos se encuentran los receptores de antígenos funcionales que no son TCR, tal como los receptores de antígenos quiméricos (CAR). En general, un CAR que contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno que presenta una especificidad similar a TCR dirigida contra complejos péptido-MHC también se puede denominar CAR similar a TCR. En algunas divulgaciones, el dominio de unión a antígeno extracelular específico para un complejo MHC-péptido de un CAR tipo TCR está unido a uno o más componentes de señalización intracelular, en algunas divulgaciones a través de enlazadores y/o dominio(s) transmembrana. En algunas divulgaciones, tales moléculas pueden similar normalmente o aproximar una señal a través de un receptor de antígeno natural, tal como un TCR, y, opcionalmente, una señal a través de dicho receptor en combinación con un receptor coestimulador.

En algunas divulgaciones, el receptor recombinante, tal como un receptor quimérico (p. ej., CAR), incluye un dominio de unión a ligando que se une, tal como se une específicamente, a un antígeno (o un ligando). Entre los antígenos direccionados por los receptores quiméricos están aquellos expresados en el contexto de una enfermedad, afección o tipo de célula a la que se dirigirá a través de la terapia celular adoptiva. Entre las enfermedades y afecciones se encuentran las enfermedades y trastornos proliferativos, neoplásicos y malignos, incluidos cánceres y tumores, incluidos cánceres hematológicos, cánceres del sistema inmunitario, tales como linfomas, leucemias y/o mielomas, tal como leucemias B, T y mieloides, linfomas y mielomas múltiples.

En algunas divulgaciones, el antígeno (o un ligando) es un polipéptido. En algunas divulgaciones, es un hidrato de carbono u otra molécula. En algunas divulgaciones, el antígeno (o un ligando) se expresa selectivamente o se sobreexpresa en células de la enfermedad o afección, p. ej., las células tumorales o patógenas, en comparación con células o tejidos normales o no dirigidos.

En algunas divulgaciones, el CAR contiene un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno (*p. ej.* scFv) que reconoce específicamente un antígeno, tal como un antígeno intacto, expresado en la superficie de una célula.

En algunas divulgaciones, el antígeno dirigido por el receptor se selecciona o comprende de entre la integrina αvβ6 (integrina avb6), antígeno de maduración de linfocitos B (BCMA), B7-H3, B7-H6, anhidrasa carbónica 9 (CA9, también conocida como CAIX o G250), un antígeno de cáncer de testículo, antígeno de cáncer/testículo 1B (CTAG, también conocido como NY-ESO-1 y LAGE-2), antígeno carcinoembrionario (CEA), una ciclina, ciclina A2, Ligando 1 de la quimiocina con motivo C-C (CCL-1), CD19, CD20, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD123, CD133, CD138, CD171, proteoglicano 4 de sulfato de condroitina (CSPG4), proteína del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), mutación del receptor del factor de crecimiento epidérmico de tipo III (EGFR vIII), glicoproteína epitelial 2 (EPG-2), glicoproteína epitelial 40 (EPG-40), efrina B2, receptor de efrina A2 (EPHa2), receptor de estrógeno, 5 similar a receptor Fc (FCRL5; también conocido como homólogo 5 de receptor Fc o FCRH5), receptor de acetilcolina fetal (AchR fetal), una proteína de unión a folato (FPB), receptor de folato alfa, ganglíosido GD2, GD2 O-acetilado (OGD2), ganglíosido GD3, glicoproteína 100 (gp100), glipicano-3 (GPC3), receptor 5D acoplado a proteína G (GPRC5D), Her2/neu (tirosina cinasa receptora erb-B2), Her3 (erb-B3), Her4 (erb-B4), dímeros de erbB, Antígeno asociado a melanoma de alto peso molecular humano (HMW-MAA), antígeno de superficie de hepatitis B, Antígeno leucocitario humano A1 (HLA-A1), Antígeno leucocitario humano A2 (HLA-A2), receptor de IL-22 alfa (IL-22Rα), receptor de IL-13 alfa 2 (IL-13Rα2), receptor de dominio de inserto de cinasa (kdr), cadena ligera kappa, molécula de adhesión celular L1 (L1-CAM), epítopo CE7 de L1-CAM, Repetición rica en leucina que contiene 8 miembros de la familia A (LRRC8A), Lewis Y, Antígeno asociado al melanoma (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MAGE-A10, mesotelina (MSLN), c-Met, citomegalovirus murino (CMV), mucina 1 (MUC1), MUC16, ligandos del miembro D del grupo 2 citolítico natural (NKG2D), melan A (MART-1), molécula de adhesión de células neurales (NCAM), antígeno oncofetal, Antígeno de melanoma expresado preferentemente (PRAME), receptor de progesterona, un antígeno específico de la próstata, antígeno de células madre prostáticas (PSCA), antígeno de membrana específico de próstata (PSMA, del inglés "prostate specific membrane antigen"), Receptor huérfano 1 similar a tirosina cinasa receptora (ROR1), survivina, glicoproteína trofoblástica (TPBG también conocida como 5T4), glicoproteína 72 asociada a tumor (TAG72), proteína 1 relacionada con tirosinasa (TRP1, también conocida como TYRP1 o gp75), proteína 2 relacionada con tirosinasa (TRP2, también conocida como dopacromo tautomerasa, dopacromo delta-isomerasa o DCT), receptor del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR), receptor 2 del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGFR2), tumor de Wilms 1 (WT-1), un antígeno específico de patógeno o expresado por patógeno, o un antígeno asociado a un marcador universal, y/o moléculas biotiniladas, y/o moléculas expresadas por VIH, VHC, VHB u otros patógenos. Los antígenos dirigidos por los receptores en algunas divulgaciones incluyen antígenos asociados a una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como cualquiera de un número de marcadores de linfocitos B conocidos. En algunas divulgaciones, el antígeno dirigido por el receptor es o incluye CD20, CD19, CD22, ROR1, CD45, CD21, CD5, CD33, Igkappa, Iglambda, CD79a, CD79b o CD30. En

algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B grandes (p. ej., LDLBG) y el antígeno es CD19.

En algunas divulgaciones, el antígeno es o incluye un antígeno específico de patógeno o expresado por patógeno. En algunas divulgaciones, el antígeno es un antígeno vírico (tal como un antígeno vírico del VIH, VHC, VHB, etc.), antígenos bacterianos y/o antígenos parasitarios.

La referencia al "complejo mayor de histocompatibilidad" (MHC) se refiere a una proteína, generalmente una glicoproteína, que contiene un sitio de unión de péptido polimórfico o un surco de unión que puede, en algunos casos, formar complejo con antígenos peptídicos de polipéptidos, incluidos los antígenos peptídicos procesados por la maquinaria celular. En algunos casos, las moléculas de MHC se pueden mostrar o expresar en la superficie celular, incluido como un complejo con péptido, *es decir,* complejo MHC-péptido, para la presentación de un antígeno en una conformación reconocible por un receptor de antígeno en los linfocitos T, tal como un RLT o anticuerpo similar a RLT. En general, las moléculas de MHC de clase I son heterodímeros que tienen una membrana que abarca la cadena α, en algunos casos con tres dominios α y una microglobulina β2 asociada de forma no covalente. En general, las moléculas de MHC de clase II están compuestas por dos glicoproteínas transmembrana, α y β, que ambas abarcan normalmente la membrana. Una molécula de MHC puede incluir una porción efectiva de un MHC que contiene un sitio o sitios de unión a antígeno para unir un péptido y las secuencias necesarias para el reconocimiento por parte del receptor de antígeno apropiado. En algunas divulgaciones, las moléculas de MHC de clase I suministran péptidos que se originan en el citosol a la superficie celular, donde un complejo MHC-péptido se reconoce por los linfocitos T, tal como en general linfocitos T $CD8^+$, pero en algunos casos linfocitos T CD4+. En algunas divulgaciones, las moléculas de MHC de clase II suministran péptidos que se originan en el sistema vesicular a la superficie celular, donde normalmente se reconocen por los linfocitos T $CD4^+$. En general, las moléculas de MHC están codificadas por un grupo de locus unidos, que se denominan colectivamente H-2 en el antígeno leucocitario de ratón y humano (HLA) en humanos. Por lo tanto, mormalmente, el MHC humano también puede denominarse antígeno leucocitario humano (HLA).

El término "complejo MHC-péptido" o "complejo péptido-MHC" o variaciones de los mismos, se refiere a un complejo o asociación de un antígeno peptídico y una molécula de MHC, tal como, en general, por interacciones no covalentes del péptido en el surco o hendidura de unión de la molécula de MHC. En algunas divulgaciones, el complejo MHC-péptido está presente o se muestra en la superficie de las células. En algunas divulgaciones, el complejo MHC-péptido puede reconocerse específicamente por un receptor de antígeno, tal como un RLT, CAR similar a RLT o porciones de unión a antígeno de los mismos.

En algunas divulgaciones, un péptido, tal como un antígeno o epítopo peptídico, de un polipéptido puede asociarse a una molécula de MHC, tal como por ejemplo para el reconocimiento por un receptor de antígeno. En general, el péptido se deriva de o se basa en un fragmento de una molécula biológica más larga, tal como un polipéptido o proteína. En algunas divulgaciones, el péptido normalmente tiene de aproximadamente 8 a aproximadamente 24 aminoácidos de longitud. En algunas divulgaciones, un péptido tiene una longitud de desde a desde aproximadamente 9 a 22 aminoácidos para su reconocimiento en el complejo MHC de Clase II. En algunas divulgaciones, un péptido tiene una longitud de desde a desde aproximadamente 8 a 13 aminoácidos para su reconocimiento en el complejo MHC de Clase I. En algunas divulgaciones, tras el reconocimiento del péptido en el contexto de una molécula de MHC, tal como el complejo MHC-péptido, el receptor de antígeno, tal como RLT o CAR similar a RLT, produce o desencadena una señal de activación al linfocito T que induce una respuesta de linfocitos T, tal como la proliferación de linfocitos T, la producción de citocinas, una respuesta de linfocitos T citotóxicos u otra respuesta.

En algunas divulgaciones, un anticuerpo similar a RLT o una porción de unión a antígeno, se conocen o pueden producirse mediante métodos conocidos (véase, por ejemplo, Solicitudes publicadas en EE. UU. Nos. US 2002/0150914; US 2003/0223994; US 2004/0191260; US 2006/0034850; US 2007/00992530; US20090226474; US20090304679; y la Publicación Internacional PCT n.º WO 03/068201).

En algunas divulgaciones, un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a un complejo MHC-péptido, puede producirse inmunizando un huésped con una cantidad eficaz de un inmunógeno que contiene un complejo MHC-péptido específico. En algunos casos, el péptido del complejo MHC-péptido es un epítopo de antígeno capaz de unirse al MHC, tal como un antígeno tumoral, por ejemplo un antígeno tumoral universal, antígeno de mieloma u otro antígeno como se describe a continuación. En algunas divulgaciones, se administra entonces una cantidad eficaz del inmunógeno a un hospedador para provocar una respuesta inmunitaria, en donde el inmunógeno conserva una forma tridimensional del mismo durante un período de tiempo suficiente para provocar una respuesta inmunitaria contra la presentación tridimensional del péptido en el surco de unión de la molécula de MHC. Entonces se analiza el suero recogido del hospedador para determinar si se están produciendo los anticuerpos deseados que reconozcan una presentación tridimensional del péptido en el surco de unión de la molécula de MHC. En algunas divulgaciones, los anticuerpos producidos pueden evaluarse para confirmar que el anticuerpo puede diferenciar el complejo MHC-péptido de la molécula de MHC sola, el péptido de interés solo y un complejo de MHC y péptido irrelevante. A continuación se pueden aislar los anticuerpos deseados.

En algunas divulgaciones, un anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a un complejo MHC-péptido puede producirse empleando métodos de presentación de bibliotecas de anticuerpos, tal como bibliotecas de anticuerpos de fagos. En algunas divulgaciones, se pueden generar bibliotecas de presentación en fagos de Fab mutante, scFv u otras formas de anticuerpos, por ejemplo, en el que los miembros de la biblioteca están mutados en uno o más residuos de una CDR o varias CDR. Véase *p. ej* Solicitud publicada en EE. UU. No. US20020150914, US2014/0294841; y Cohen CJ. et al. (2003) J Mol. Recogn. 16:324-332.

El término "anticuerpo" en el presente documento se usa en el sentido más amplio e incluye anticuerpos policlonales y monoclonales, incluyendo anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpos funcionales (de unión a antígeno), incluyendo fragmentos de unión a antígeno de fragmento (Fab), fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos Fab', fragmentos Fv, fragmentos de IgG recombinante (rIgG), regiones de cadena pesada variable (V_H) capaces de unirse específicamente al antígeno, fragmentos de anticuerpos monocatenarios, incluyendo fragmentos variables monocatenarios (scFv) y fragmentos de anticuerpos de dominio único (*por ejemplo,* sdAb, sdFv, nanocuerpo). El término abarca formas modificadas genéticamente y/o modificadas de otra manera de inmunoglobulinas, tales como intracuerpos, pepticuerpos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos totalmente humanos, anticuerpos humanizados y anticuerpos heteroconjugados, multiespecíficos, p. ej., biespecíficos, anticuerpos, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos, di-scFv en tándem, tri-scFv en tándem. A menos que se indique otra cosa, debe entenderse que el término "anticuerpo" abarca fragmentos de anticuerpos funcionales del mismo. El término también incluye anticuerpos intactos o de longitud completa, incluyendo anticuerpos de cualquier clase o subclase, incluyendo IgG y subclases de la misma, IgM, IgE, IgA y IgD.

En algunas divulgaciones, las proteínas de unión a antígeno, anticuerpos y sus fragmentos de unión a antígeno reconocen específicamente un antígeno de un anticuerpo de longitud completa. En algunas divulgaciones, las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo pueden ser de longitud completa o pueden ser una porción de unión al antígeno (a Fab, F(ab')2, Fv o un fragmento Fv de cadena sencilla (scFv)). En otras divulgaciones, la región constante de cadena pesada de anticuerpo se selecciona de, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE, particularmente se selecciona de, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 y IgG4, más particularmente, IgG1 (*p. ej.*, IgG1 humana). En otra divulgación, la región constante de cadena ligera de anticuerpo se selecciona de, p. ej., kappa o lambda, particularmente kappa.

Entre los anticuerpos divulgados están fragmentos de anticuerpo. Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo inalterado que comprende una porción de un anticuerpo inalterado que se une al antígeno al que se une el anticuerpo inalterado. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, pero sin limitación, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$; diacuerpos; anticuerpos lineales; regiones de cadena pesada variable (V_H), moléculas de anticuerpos monocatenarios tales como scFv y anticuerpos simples de dominio único V_H; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos. En divulgaciones particulares, los anticuerpos son fragmentos de anticuerpos de cadena simple que comprenden una región de cadena pesada variable y/o una región de cadena ligera variable, tal como scFvs.

Las expresiones "región determinante de la complemntariedad", y "CDR", sinónimas con "región hipervariable" o "HRV", se sabe, en algunos casos, que se refieren a secuencias no contiguas de aminoácidos dentro de regiones variables de anticuerpos, que confieren especificidad de antígeno y/o afinidad de unión. En general, hay tres CDR en cada región variable de cadena pesada (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) y tres CDR en cada región variable de cadena ligera (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3). Se sabe que "regiones marco conservadas" y "FR", en algunos casos, se refieren a las porciones no de CDR de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera. En general, hay cuatro FR en cada región variable de cadena pesada de longitud completa (FR-H1, FR-H2, FR-H3 y FR-H4) y cuatro FR en cada región variable de cadena ligera de longitud completa (FR-L1, FR-L2, FR-L3 y FR-L4).

Los límites de secuencia de aminoácidos precisos de una CDR o FR dada pueden determinarse fácilmente usando cualquiera de un número de esquemas bien conocidos, incluyendo aquellos descritos por Kabat *et al.* (1991), "*Sequences of Proteins of Immunological Interest*", 5.ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (esquema de numeración de "Kabat" numbering scheme); Al-Lazikani *et al.*, (1997) *JMB* 273.927--948 (esquema de numeración de "Chothia"); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. (262):732-745 (1996), "*Antibody-antigen interactions: Contact analysis and binding site topography*", J. Mol. Biol. 262, 732-745". (esquema de numeración de "Contacto"); Lefranc MP *et al.*, "*IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains*", *Dev Comp Immunol*, enero de 2003; 27(1):55-77 (esquema de numeración de "IMGT"); Honegger A y Plückthun A, "*Yet another numbering scheme for immunoglobulin variable domains: an automatic modeling and analysis tool*", *J Mol Biol*, 8 de junio de 2001; 309(3):657-70, (esquema de numeración de "Aho"); y Martin *et al.*, "*Modeling antibody hypervariable loops: a combined algorithm*", *PNAS*, 1989, 86(23):9268-9272, (esquema de numeración de "AbM").

Los límites de una CDR o FR dada pueden variar dependiendo del esquema utilizado para la identificación. Por ejemplo, el esquema de Kabat se basa en alineaciones estructurales, mientras que el esquema de Chothia se basa en información estructural. La numeración para los esquemas de Kabat y Chothia se basa en las longitudes de secuencia de región de anticuerpo más comunes, con inserciones acomodadas por letras de inserción, por ejemplo, "30a", y deleciones que aparecen en algunos anticuerpos. Los dos esquemas colocan determinadas inserciones y

deleciones ("indels") en diferentes posiciones, dando como resultado una numeración diferencial. El esquema de contacto se basa en el análisis de estructuras cristalinas complejas y es similar en muchos aspectos al esquema de numeración de Chothia. El esquema de AbM es un compromiso entre las definiciones de Kabat y Chothia basándose en el utilizado por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular.

Tabla 10, a continuación, enumera límites de posición de ejemplo de CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3 y CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3 como se identifica mediante los esquemas de Kabat, Chothia, AbM y Contacto, respectivamente. Para CDR-H1, la numeración de restos se enumera usando los esquemas de numeración de Kabat y de Chothia. Las FR se ubican entre las CDR, por ejemplo, con FR-L1 ubicada antes de CDR-L1, FR-L2 ubicada entre CDR-L1 y CDR-L2, FR-L3 ubicada entre CDR-L2 y CDR-L3 y así sucesivamente. Se observa que debido a que el esquema de numeración de Kabat mostrado coloca inserciones en H35A y H35B, el final del bucle de CDR-H1 de Chothia cuando se numera usando la convención de numeración de Kabat mostrada varía entre H32 y H34, dependiendo de la longitud del bucle.

Tabla 10. Límites de las CDR de acuerdo con diversos esquemas de numeración.

CDR	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**
CDR-L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30-L36
CDR-L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
CDR-L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
CDR-H1 (Numeración de Kabat[1])	H31--H35B	H26--H32.34	H26--H35B	H30--H35B
CDR-H1 (Numeración de Chothia[2])	H31--H35	H26-H32	H26-H35	H3 0--H3 5
CDR-H2	H50--H65	H52--H56	H50--H58	H47--H58
CDR-H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93-H101

1 -Kabat *et al.* (1991), "*Sequences of Proteins of Immunological Interest*", 5.ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD
2 - Al-Lazikani *et al.*, (1997) *JMB* 273,927-948

Por lo tanto, a menos que se especifique otra cosa, una "CDR" o "región determinante de la complementariedad", o CDR individuales especificadas (por ejemplo, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3), de un anticuerpo dado o región del mismo, tal como una región variable del mismo, debe entenderse que abarca una región determinante de la complementariedad (o la específica) como se define por cualquiera de los esquemas mencionados anteriormente u otros esquemas conocidos. Por ejemplo, donde se establece que una CDR particular (por ejemplo, una CDR-H3) contiene la secuencia de aminoácidos de una CDR correspondiente en una secuencia de aminoácidos de la región V_H o V_L dada, se entiende que una CDR de este tipo tiene una secuencia de la CDR correspondiente (por ejemplo, CDR-H3) dentro de la región variable, como se define por cualquiera de los esquemas mencionados anteriormente u otros esquemas conocidos. En algunas divulgaciones, se especifican secuencias de CDR específicas. Se describen secuencias de CDR de ejemplo de anticuerpos que se divulgan usando diversos esquemas de numeración, aunque se entiende que un anticuerpo que se divulga puede incluir CDR como se describe de acuerdo con cualquiera de los otros esquemas de numeración mencionados anteriormente u otros esquemas de numeración conocidos por un experto en la materia.

De forma análoga, a menos que se especifique otra cosa, una FR o FR(s) especificada(s) individual(es) (*p. ej.*, FR-H1, FR-H2, FR-H3, FR-H4), de un anticuerpo dado o región del mismo, tal como una región variable del mismo, debe entenderse que abarca una región marco (o la específica) definida por cualquiera de los esquemas conocidos. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, se especifica el esquema para la identificación de una CDR, FR particular, o varias FR o CDR, tal como la CDR como se define por el método de Kabat, Chothia, AbM o Contacto, u otros esquemas conocidos. En otros casos, se proporciona la secuencia de aminoácidos particular de una CDR o FR.

La expresión "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena ligera o pesada de anticuerpo que está implicada en la unión del antígeno al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera (V_H y V_L, respectivamente) de un anticuerpo nativo tienen generalmente estructuras similares, comprendiendo cada una cuatro regiones marco conservadas (FR, por sus siglas en inglés) y tres CDR. (Véase, por ejemplo., Kindt *et al. Kuby Immunology*, 6.ª ed., W.H. Freeman and Co., página 91 (2007). Un único dominio V_H o V_L puede ser suficiente para conferir especificidad de unión a antígeno. Además, los anticuerpos que se unen a un antígeno particular pueden aislarse usando un dominio V_H o V_L de un anticuerpo que se une al antígeno para cribar una biblioteca de dominios V_L o V_H complementarios, respectivamente. Véase, p. ej., Portolano *et al., J. Immunol.* 150:880-887 (1993); Clarkson *et al., Nature* 352:624-628 (1991).

Los anticuerpos de un solo dominio son fragmentos de anticuerpos que comprenden todo o una porción del dominio variable de cadena pesada o todo o una porción del dominio variable de cadena ligera de un anticuerpo. En determinadas divulgaciones, un anticuerpo de dominio único es un anticuerpo de dominio único humano. En algunas divulgaciones, el CAR comprende un dominio de cadena pesada de anticuerpo que se une específicamente al antígeno, tal como un marcador de cáncer o un antígeno de superficie celular de una célula o enfermedad a la que se va a dirigir, tal como una célula tumoral o una célula cancerosa, tal como cualquiera de los antígenos diana que

se describen en el presente documento o conocidos.

Los fragmentos de anticuerpos pueden fabricarse mediante diversas técnicas, incluyendo, pero sin limitación, digestión proteolítica de un anticuerpo intacto así como la producción por células hospedadoras recombinantes. En algunas divulgaciones, los anticuerpos son fragmentos producidos de forma recombinante, tales como fragmentos que comprenden disposiciones que no se producen de forma natural, tales como aquellos con dos o más regiones o cadenas de anticuerpo unidas por enlazadores sintéticos, p. ej., enlazadores peptídicos, y/o que no se pueden producir mediante digestión enzimática de un anticuerpo intacto de origen natural. En algunas divulgaciones, los fragmentos de anticuerpos son scFv.

Un anticuerpo "humanizado" es un anticuerpo en el que todos o sustancialmente todos los restos de aminoácidos de CDR derivan de CDR no humanas y todos o sustancialmente todos los restos de aminoácidos de FR derivan de FR humanas. Un anticuerpo humanizado puede incluir opcionalmente al menos una porción de una región constante de anticuerpo derivada de un anticuerpo humano. Una "forma humanizada" de un anticuerpo no humano, se refiere a una variante del anticuerpo no humano que ha experimentado humanización, típicamente para reducir la inmunogenicidad en humanos, conservando al mismo tiempo la especificidad y afinidad del anticuerpo no humano parental. En algunas divulgaciones, algunos restos de FR en un anticuerpo humanizado se sustituyen con restos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del que derivan los restos de CDR), p. ej., para restablecer o mejorar la especificidad o afinidad del anticuerpo.

En algunas divulgaciones, el antígeno o dominio de unión a antígeno es CD19. En algunas divulgaciones, el scFv contiene un V_H y un V_L derivado de un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo específico de CD19. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a CD 19 es un anticuerpo derivado de ratón tal como FMC63 y SJ25C1. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo es un anticuerpo humano, por ejemplo, como se describe en la Publicación de Patente de los EE.UU. N.º US 2016/0152723.

En algunas divulgaciones, el scFv se deriva de FMC63. FMC63 generalmente se refiere a un anticuerpo IgG1 monoclonal de ratón originado contra células Nalm-1 y 16 que expresan CD19 de origen humano (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III.* 302). En algunas divulgaciones, el anticuerpo FMC63 comprende CDR-H1 y CDR-H2 expuestas en las SEQ ID NO: 38 y 39, respectivamente, y CDR-H3 expuesta en la SEQ ID NO: 40 o 54; y CDR-L1 expuesta en la SEQ ID NO: 35 y CDR-L2 expuesta en la SEQ ID NO: 36 o 55 y CDR-L3 expuesta en la SEQ ID NO: 37 o 34. En algunas divulgaciones, el anticuerpo FMC63 comprende la región variable de cadena pesada (V_H) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41 y la región variable de cadena ligera (V_L) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42.

En algunas divulgaciones, el scFv comprende una cadena ligera variable que contiene la secuencia de CDR-L1 de la SEQ ID NO: 35, una secuencia de CDR-L2 de la SEQ ID NO: 36 y una secuencia de CDR-L3 de la SEQ ID NO: 37 y/o una cadena pesada variable que contiene una secuencia de CDR-H1 de la SEQ ID NO: 38, una secuencia de CDR-H2 de la SEQ ID NO: 39 y una secuencia de CDR-H3 de la SEQ ID NO: 40. En algunas divulgaciones, el scFv comprende una región de cadena pesada variable expuesta en la SEQ ID NO: 41 y una región de cadena ligera variable expuesta en la SEQ ID NO: 42. En algunas divulgaciones, las cadenas pesada variable y ligera variable están conectadas por un enlazador. En algunas divulgaciones, el enlazador se expone en la SEQ ID NO: 56. En algunas divulgaciones, el scFv comprende, en orden, una V_H, un enlazador y una V_L. En algunas divulgaciones, el scFv comprende, en orden, una V_L, un enlazador y una V_H. En algunas divulgaciones, el scFv está codificado por una secuencia de nucleótidos expuesta en la SEQ ID NO: 57 o una secuencia que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 57. En algunas divulgaciones, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 43 o una secuencia que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 43.

En algunas divulgaciones, el scFv deriva de SJ25C1. SJ25C1 es un anticuerpo IgG1 monoclonal de ratón originado contra células Nalm-1 y 16 que expresan CD19 de origen humano (Ling, N. R., *et al.* (1987). *Leucocyte typing III.* 302). En algunas divulgaciones, el anticuerpo SJ25C1 comprende CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 que se muestra en las SEQ ID NO: 47-49, respectivamente, y las secuencias CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 expuestas en las SEQ ID NO: 44-46, respectivamente. En algunas divulgaciones, el anticuerpo SJ25C1 comprende la región variable de cadena pesada (V_H) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50 y la región variable de cadena ligera (V_L) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 51.

En algunas divulgaciones, el scFv comprende una cadena ligera variable que contiene una secuencia de CDR-L1 de la SEQ ID NO: 44, una secuencia de CDR-L2 de la SEQ ID NO: 45 y una secuencia de CDR-L3 de la SEQ ID NO: 46 y/o una cadena pesada variable que contiene una secuencia de CDR-H1 de la SEQ ID NO: 47, una secuencia de CDR-H2 de la SEQ ID NO: 48 y una secuencia de CDR-H3 de la SEQ ID NO: 49. En algunas divulgaciones, el scFv comprende una región de cadena pesada variable expuesta en la SEQ ID NO: 50 y una región de cadena ligera variable expuesta en la SEQ ID NO: 51. En algunas divulgaciones, la cadena pesada variable y ligera variable están conectadas por un enlazador. En algunas divulgaciones, el enlazador se expone en la SEQ ID NO: 52. En algunas divulgaciones, el scFv comprende, en orden, una V_H, un enlazador y una V_L. En algunas divulgaciones, el scFv

comprende, en orden, una V_L, un enlazador y una V_H. En algunas divulgaciones, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 53 o una secuencia que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 53.

En algunas divulgaciones, el antígeno es CD20. En algunas divulgaciones, el scFv contiene un V_H y un V_L derivado de un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo específico de CD20. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a CD20 es un anticuerpo que es o se deriva de Rituximab, como scFv de Rituximab.

En algunas divulgaciones, el antígeno es CD22. En algunas divulgaciones, el scFv contiene un V_H y un V_L derivado de un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo específico de CD22. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a CD22 es un anticuerpo que es o se deriva de m971, tal como es scFv de m971.

En algunas divulgaciones, el antígeno o dominio de unión a antígeno es BCMA. En algunas divulgaciones, el scFv contiene una V_H y una V_L derivada de un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo específico de BCMA. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a BCMA es o contiene una V_H y una V_L de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo expuesto en las solicitudes de patente internacionales, número de publicación WO 2016/090327 y WO 2016/090320.

En algunas divulgaciones, el antígeno o dominio de unión a antígeno es GPRC5D. En algunas divulgaciones, el scFv contiene un V_H y un V_L derivado de un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo específico de GPRC5D. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a GPRC5D es o contiene una V_H y una V_L de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo expuesto en las solicitudes de patente internacionales, número de publicación WO 2016/090329 y WO 2016/090312.

En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye una porción extracelular que contiene un anticuerpo o fragmento de anticuerpo. En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye una porción extracelular que contiene el anticuerpo o fragmento y un dominio de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o fragmento incluye un scFv. En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye una porción extracelular que contiene el anticuerpo o fragmento y una región de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular es o comprende un dominio de señalización primaria, un dominio de señalización que es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, un dominio de señalización de un componente receptor de linfocitos T (TCR) y/o un dominio de señalización que comprende un motivo de activación basado en tirosina inmunorreceptor (ITAM).

En algunas divulgaciones, la porción de anticuerpo del receptor recombinante, por ejemplo, CAR, incluye además al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina, tal como una región de bisagra, por ejemplo, una región bisagra de IgG4 y/o una región C_H1/C_L y/o Fc. En algunas divulgaciones, la región o porción constante es de una IgG humana, tal como IgG4 o IgG1. En algunas divulgaciones, la porción de la región constante sirve como una región espaciadora entre el componente de reconocimiento de antígeno, por ejemplo, scFv y dominio transmembrana. El espaciador puede tener una longitud que proporcione una mayor capacidad de respuesta de la célula después de la unión a antígeno, en comparación con en ausencia del espaciador. Los espaciadores de ejemplo incluyen, pero sin limitación, aquellos descritos en Hudecek *et al.* (2013) *Clin. Cancer Res.*, 19:3153, las Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional números WO2014031687, Patente de EE. UU. N.º 8.822.647 o aplicación publicada n.º US2014/0271635.

En algunas divulgaciones, la región o porción constante es de una IgG humana, tal como IgG4 o IgG1. En algunas divulgaciones, el espaciador tiene la secuencia ESKYGPPCPPCP (expuesta en la SEQ ID NO: 1) y está codificado por la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 2. En algunas divulgaciones, el espaciador tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 3. En algunas divulgaciones, el espaciador tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 4. En algunas divulgaciones, la región o porción constante es de IgD. En algunas divulgaciones, el espaciador tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 5. En algunas divulgaciones, el espaciador tiene una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 3, 4, o 5. En algunas divulgaciones, el espaciador tiene la secuencia expuesta en las SEQ ID NO: 26-34. En algunas divulgaciones, el espaciador tiene una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO: 26-34.

En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno comprende un dominio intracelular unido directa o indirectamente al dominio extracelular. En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno quimérico incluye un dominio transmembrana que une el dominio extracelular y el dominio de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular comprende un ITAM. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el dominio de

reconocimiento de antígeno (por ejemplo, dominio extracelular) generalmente está unido a uno o más componentes de señalización intracelular, tales como componentes de señalización que imitan la activación a través de un complejo receptor de antígeno, tal como un complejo de TCR, en el caso de un CAR y/o señal a través de otro receptor de superficie celular. En algunas divulgaciones, el receptor quimérico comprende un dominio transmembrana unido o fusionado entre el dominio extracelular (por ejemplo, scFv) y el dominio de señalización intracelular. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, el componente de unión a antígeno (por ejemplo, anticuerpo) está unido a uno o más dominios de señalización transmembrana e intracelular.

En una divulgación, se usa un dominio transmembrana que se asocia naturalmente a uno de los dominios en el receptor, por ejemplo, CAR. En algunos casos que se divulgan en el presente documento, el dominio transmembrana se selecciona o modifica mediante sustitución de aminoácidos para evitar la unión de dichos dominios a los dominios transmembrana de las mismas o diferentes proteínas de membrana de superficie para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor.

El dominio transmembrana en algunas divulgaciones se deriva de una fuente natural o de una sintética. Si la fuente es natural, el dominio en algunas divulgaciones deriva de cualquier proteína unida a membrana o transmembrana. Las regiones transmembrana incluyen aquellas derivadas de (es decir, comprenden al menos la región o regiones transmembrana de) la cadena alfa, beta o zeta del receptor de linfocitos T, CD28, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD 137, CD154. Como alternativa, el dominio transmembrana en algunas divulgaciones es sintético. En algunas divulgaciones, el dominio transmembrana sintético comprende predominantemente restos hidrófobos tales como leucina y valina. En algunas divulgaciones, se encontrará un triplete de fenilalanina, triptófano y valina en cada extremo de un dominio transmembrana sintético. En algunas divulgaciones, el enlace es mediante enlazadores, espaciadores y/o uno o más dominios transmembrana. En algunas divulgaciones, el dominio transmembrana contiene una porción transmembrana de CD28.

En algunas divulgaciones, el dominio extracelular y el dominio transmembrana pueden unirse directa o indirectamente. En algunas divulgaciones, el dominio extracelular y transmembrana se unen mediante un espaciador, tal como cualquiera que se describe en el presente documento. En algunas divulgaciones, el receptor contiene una porción extracelular de la molécula de la que deriva el dominio transmembrana, tal como una porción extracelular de CD28.

Entre los dominios de señalización intracelular se encuentran aquellos que imitan o se aproximan a una señal a través de un receptor de antígeno natural, una señal a través de un receptor de este tipo en combinación con un receptor coestimulador y/o una señal a través de un receptor coestimulador solo. En algunas divulgaciones, un conector oligo- o polipeptídico corto, por ejemplo, un enlazador de entre 2 y 10 aminoácidos de longitud, tal como uno que contiene glicinas y serinas, por ejemplo, doblete de glicina-serina, está presente y forma un enlace entre el dominio transmembrana y el dominio de señalización citoplásmica del CAR.

La activación de linfocitos T se describe en algunas divulgaciones como mediada por dos clases de secuencias de señalización citoplasmáticas: las que inician la activación primaria dependiente de antígeno a través del TCR (secuencias de señalización citoplasmática primaria) y aquellas que actúan de manera independiente de antígeno para proporcionar una señal secundaria o coestimuladora (secuencias de señalización citoplasmática secundaria). En algunas divulgaciones, el CAR incluye uno o ambos de dichos componentes de señalización.

El receptor, por ejemplo, el CAR, generalmente incluye al menos un componente o componentes de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, el CAR incluye una secuencia de señalización citoplasmática primaria que regula la activación primaria del complejo de TCR. Las secuencias de señalización citoplasmática primaria que actúan de manera estimuladora pueden contener motivos de señalización que se conocen como motivos de activación basados en tirosina inmunorreceptores o ITAM. Los ejemplos de ITAM que contienen secuencias de señalización citoplasmática primaria incluyen las derivadas de la cadena CD3 zeta, FcR gamma, CD3 gamma, CD3 delta y CD3 épsilon. En algunas divulgaciones, la molécula o moléculas de señalización citoplasmática en el CAR contiene o contienen un dominio de señalización citoplasmática, porción del mismo o secuencia derivada de CD3 zeta.

En algunas divulgaciones, el receptor incluye un componente intracelular de un complejo de TCR, tal como una cadena de CD3 de TCR que media la activación y citotoxicidad de linfocitos T, por ejemplo, cadena CD3 zeta. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, la porción de unión a antígeno está unida a uno o más módulos de señalización celular. En algunas divulgaciones, los módulos de señalización celular incluyen el dominio transmembrana de CD3, los dominios de señalización intracelular de CD3 y/u otros dominios transmembrana de CD. En algunas divulgaciones, el receptor, por ejemplo, CAR, incluye además una porción de una o más moléculas adicionales tales como receptor de Fc γ, CD8, CD4, CD25 o CD16. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el CAR u otro receptor quimérico incluye una molécula quimérica entre CD3-zeta (CD3-ζ) o receptor de Fc γ y CD8, CD4, CD25 o CD16.

En algunas divulgaciones, tras la ligadura del CAR u otro receptor quimérico, el dominio citoplasmático o dominio de señalización intracelular del receptor activa al menos una de las funciones o respuestas efectoras normales de la célula inmunitaria, por ejemplo, linfocito T modificado por ingeniería genética para expresar el CAR. Por ejemplo, en

algunos contextos, el CAR induce una función de un linfocito T tal como la actividad citolítica o la actividad T auxiliar, tal como la secreción de citocinas u otros factores. En algunas divulgaciones, se usa una porción truncada de un dominio de señalización intracelular de un componente receptor de antígeno o molécula coestimuladora en lugar de una cadena inmunoestimuladora intacta, por ejemplo, si transduce la señal de función efectora. En algunas divulgaciones, el dominio o dominios de señalización intracelular incluyen las secuencias citoplasmáticas del receptor de linfocitos T (TCR) y, en algunas divulgaciones, también aquellas de los correceptores que, en el contexto natural, actúan en conjunto con dichos receptores para iniciar la transducción de señales después del acoplamiento del receptor de antígeno.

En el contexto de un TCR natural, la activación total generalmente requiere no sólo la señalización a través del TCR, sino también una señal coestimuladora. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, para promover la activación total, también se incluye en el CAR un componente para generar una señal secundaria o coestimuladora. En otras divulgaciones, el CAR no incluye un componente para generar una señal coestimuladora. En algunas divulgaciones, se expresa un CAR adicional en la misma célula y proporciona el componente para generar la señal secundaria o coestimuladora.

En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno quimérico contiene un dominio intracelular de una molécula coestimuladora de linfocitos T. En algunas divulgaciones, el CAR incluye un dominio de señalización y/o porción transmembrana de un receptor coestimulador, tal como CD28, 4-1BB, OX40, DAP10 e ICOS. En algunas divulgaciones, el mismo CAR incluye tanto los componentes activadores como coestimuladores. En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno quimérico contiene un dominio intracelular derivado de una molécula coestimuladora de linfocitos T o una variante funcional de la misma, tal como entre el dominio transmembrana y el dominio de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, la molécula coestimuladora de linfocitos T es CD28 o 41BB.

En algunas divulgaciones, el dominio activador está incluido dentro de un CAR, mientras que el componente coestimulador lo proporciona otro CAR que reconoce otro antígeno. En algunas divulgaciones, los CAR incluyen CAR activadores o estimuladores, CAR coestimuladores, ambos expresados en la misma célula (véase el documento WO2014/055668). En algunas divulgaciones, las células incluyen uno o más CAR estimuladores o activadores y/o un CAR coestimulador. En algunas divulgaciones, las células incluyen además CAR inhibidores (iCAR, véase Fedorov *et al.*, Sci. Transl. *Medicine*, 5(215) (diciembre de 2013), tal como un CAR que reconoce un antígeno distinto del asociado a y/o específico para la enfermedad o afección por lo que una señal activadora suministrada a través del CAR dirigido a la enfermedad se disminuye o inhibe mediante la unión del CAR inhibidor a su ligando, por ejemplo, para reducir los efectos inespecíficos.

En algunas divulgaciones, los dos receptores inducen, respectivamente, una señal activadora y una inhibidora a la célula, de manera que la unión de uno de los receptores a su antígeno activa la célula o induce una respuesta, pero la unión por el segundo receptor inhibidor a su antígeno induce una señal que suprime o amortigua esa respuesta. Son ejemplos las combinaciones de CAR activadores y CAR inhibidores (iCAR). Puede usarse una estrategia de este tipo, por ejemplo, para reducir la probabilidad de efectos fuera de diana en el contexto en el que el CAR activador se une a un antígeno expresado en una enfermedad o afección, pero que también se expresa en células normales, y el receptor inhibidor se une a un antígeno separado que se expresa en las células normales, pero no en las células de la enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, el receptor quimérico es o incluye un CAR inhibidor (por ejemplo, iCAR) e incluye componentes intracelulares que amortiguan o suprimen una respuesta inmunitaria, tal como una respuesta promovida por ITAM y/o coestimulación en la célula. A modo de ejemplo de tales componentes de señalización intracelular son aquellos encontrados en moléculas de punto de control inmunitario, incluyendo PD-1, CTLA4, LAG3, BTLA, OX2R, TIM-3, TIGIT, LAIR-1, receptores de PGE2, los receptores de adenosina EP2/4, incluido A2AR. En algunas divulgaciones, la célula modificada por ingeniería incluye un CAR inhibidor que incluye un dominio de señalización de o derivado de una molécula inhibidora, de tal manera que sirve para amortiguar la respuesta de la célula, por ejemplo, que se induce por un CAR activador y/o coestimulador.

En determinadas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio transmembrana y de señalización de CD28 unido a un dominio intracelular de CD3 (por ejemplo, CD3-zeta). En algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular comprende dominios coestimuladores CD28 y CD137 quiméricos (4-1BB, TNFRSF9), unidos a un dominio intracelular CD3 zeta.

En algunas divulgaciones, el CAR abarca uno o más, por ejemplo, dos o más, dominios coestimuladores y un dominio de activación, por ejemplo, dominio de activación primaria, en la porción citoplasmática. Los CAR de ejemplo incluyen componentes intracelulares de CD3-zeta, CD28 y 4-1BB.

En algunas divulgaciones, el receptor de antígeno incluye además un marcador y/o las células que expresan el CAR u otro receptor de antígeno incluye además un marcador sustituto, tal como un marcador de superficie celular, que puede usarse para confirmar la transducción o modificación por ingeniería genética de la célula para expresar el receptor. En algunas divulgaciones, el marcador incluye todo o parte (por ejemplo, forma truncada) de CD34, un

NGFR, o receptor de factor de crecimiento epidérmico, tal como una versión truncada de dicho receptor de superficie celular (por ejemplo, tEGFR). En algunas divulgaciones, el ácido nucleico que codifica el marcador está unido operativamente a un polinucleótido que codifica una secuencia enlazadora, tal como una secuencia enlazadora escindible, por ejemplo, T2A. Por ejemplo, un marcador y, opcionalmente, una secuencia enlazadora, puede ser cualquiera como se divulga en la solicitud de patente publicada n.º WO2014031687. Por ejemplo, el marcador puede ser un EGFR truncado (tEGFR) que está, opcionalmente, unido a una secuencia enlazadora, tal como una secuencia enlazadora escindible de T2A.

Un polipéptido de ejemplo para un EGFR truncado (por ejemplo, tEGFR) comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7 o 16 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 7 u 16. Una secuencia enlazadora de T2A de ejemplo comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6 o 17 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 6 u 17.

En algunas divulgaciones, el marcador es una molécula, por ejemplo, proteína de superficie celular, que no se encuentra de forma natural en los linfocitos T o no se encuentra de forma natural en la superficie de los linfocitos T, o una porción de los mismos. En algunas divulgaciones, la molécula es una molécula no propia, por ejemplo, proteína no propia, es decir, una que no es reconocida como "propia" por el sistema inmunitario del hospedador al que se le transferirán adoptivamente las células.

En algunas divulgaciones, el marcador no cumple ninguna función terapéutica y/o no produce ningún otro efecto que no sea su uso como marcador para la modificación por ingeniería genética, por ejemplo, para seleccionar células modificadas por ingeniería genética satisfactoriamente. En otras divulgaciones, el marcador puede ser una molécula terapéutica o una molécula que ejerza de otro modo algún efecto deseado, tal como un ligando para que una célula se encuentre *in vivo*, tal como una molécula coestimuladora o de punto de control inmunitario para potenciar y/o amortiguar las respuestas de las células tras la transferencia adoptiva y el encuentro con el ligando.

En algunos casos, CAR se refieren a CAR de primera, segunda y/o tercera generación. En algunas divulgaciones, un CAR de primera generación es uno que proporciona únicamente una señal inducida por la cadena CD3 tras la unión a antígeno; en algunas divulgaciones, un CAR de segunda generación es uno que proporciona una señal y una señal coestimuladora de este tipo, tal como uno que incluye un dominio de señalización intracelular de un receptor coestimulador tal como CD28 o CD137; en algunas divulgaciones, un CAR de tercera generación es uno que incluye múltiples dominios coestimuladores de diferentes receptores coestimuladores.

Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el CAR contiene un anticuerpo, por ejemplo, un fragmento de anticuerpo, un dominio transmembrana que es o contiene una porción transmembrana de CD28 o una variante funcional del mismo, y un dominio de señalización intracelular que contiene una porción de señalización de CD28 o variante funcional del mismo y una porción de señalización de CD3 zeta o variante funcional del mismo. En algunas divulgaciones, el CAR contiene un anticuerpo, por ejemplo, fragmentos de anticuerpos, un dominio transmembrana que es o contiene una porción transmembrana de CD28 o una variante funcional del mismo, y un dominio de señalización intracelular que contiene una porción de señalización de un 4-1BB o variante funcional del mismo y una porción de señalización de CD3 zeta o variante funcional del mismo. En algunas de dichas divulgaciones, el receptor incluye además un espaciador que contiene una porción de una molécula de Ig, tal como una molécula de Ig humana, tal como una bisagra de Ig, por ejemplo, una bisagra de IgG4, tal como un espaciador solamente de bisagra.

En algunas divulgaciones, el dominio transmembrana del receptor recombinante, por ejemplo, el CAR, es o incluye un dominio transmembrana de CD28 humano (por ejemplo, N.º de acceso P01747.1) o variante del mismo, tal como un dominio transmembrana que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 8 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 8; en algunas divulgaciones, la porción que contiene dominio transmembrana del receptor recombinante comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos exactamente o aproximadamente un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma.

En algunas divulgaciones, el componente o componentes de señalización intracelular del receptor recombinante, por ejemplo, el CAR, contiene un dominio de señalización coestimuladora intracelular de CD28 humano o una variante funcional o porción del mismo, tal como un dominio con una sustitución de LL a GG en las posiciones 186-187 de una proteína CD28 nativa. Por ejemplo, el dominio de señalización intracelular puede comprender la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 10 u 11 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 10 u 11. En algunas divulgaciones, el dominio intracelular comprende un dominio de señalización coestimuladora intracelular de 4-1BB (por ejemplo, N.º de acceso Q07011.1) o variante funcional o

porción del mismo, tal como la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 12.

En algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular del receptor recombinante, por ejemplo, el CAR, comprende un dominio de señalización estimuladora de CD3 zeta humano o una variante funcional del mismo, tal como un dominio citoplasmático de 112 AA de la isoforma 3 de CD3ζ humano (N.º de acceso: P20963.2) o un dominio de señalización CD3 zeta como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º: 7.446.190 o la Patente de los EE.UU. N.º 8.911.993. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular comprende la secuencia de aminoácidos como se expone en la SEQ ID NO: 13, 14 o 15 o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 13, 14 o 15.

En algunas divulgaciones, el espaciador contiene solamente una región bisagra de una IgG, tal como solamente una bisagra de IgG4 o IgG1, tal como el espaciador solamente de bisagra expuesto en la SEQ ID NO: 1. En otras divulgaciones, el espaciador es o contiene una bisagra de Ig, por ejemplo, una bisagra derivada de IgG4, opcionalmente unida a un dominio C_H2 y/o C_H3. En algunas divulgaciones, el espaciador es una bisagra de Ig, por ejemplo, una bisagra de IgG4, unida a dominios C_H2 y C_H3, tal como se expone en la SEQ ID NO: 4. En algunas divulgaciones, el espaciador es una bisagra de Ig, por ejemplo, una bisagra de IgG4, unida a un dominio C_H3 solamente, tal como se expone en la SEQ ID NO: 3. En algunas divulgaciones, el espaciador es o comprende una secuencia rica en glicina-serina u otro enlazador flexible tal como enlazadores flexibles conocidos.

Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el CAR incluye un anticuerpo tal como un fragmento de anticuerpo, incluyendo scFv, un espaciador, tal como un espaciador que contiene una porción de una molécula de inmunoglobulina, tal como una región bisagra y/o una o más regiones constantes de una molécula de cadena pesada, tal como un espaciador que contiene bisagra de Ig, un dominio transmembrana que contiene todo o una porción de un dominio transmembrana derivado de CD28, un dominio de señalización intracelular derivado de CD28 y un dominio de señalización de CD3 zeta. En algunas divulgaciones, el CAR incluye un anticuerpo o fragmento, tal como scFv, un espaciador tal como cualquiera de los espaciadores que contienen bisagra de Ig, un dominio transmembrana derivado de CD28, un dominio de señalización intracelular derivado de 4-1BB y un dominio de señalización derivado de CD3 zeta.

En divulgaciones particulares, el CAR es un CAR dirigida a CD19 que contiene un dominio de unión a antígeno scFv de FMC63; un espaciador de bisagra de inmunoglobulina, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que contiene una región de señalización coestimuladora que es un dominio de señalización de 4-1BB y un dominio de señalización de una cadena CD3-zeta (CD3ζ). En algunas divulgaciones, el scFv contiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 43. En algunas divulgaciones, el scFv tiene un VL que tiene CDR que tienen una secuencia de aminoácidos RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), una secuencia de aminoácidos de SRLHSGV (SEQ ID NO: 36) y una secuencia de aminoácidos de GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37); y un VH con CDR que tienen una secuencia de aminoácidos de DYGVS (SEQ ID NO: 38), una secuencia de aminoácidos de VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) y YAMDYWG (SEQ ID NO: 40). En algunas divulgaciones, el dominio transmembrana tiene la secuencia expuesta en la SQ ID NO: 8. En algunas divulgaciones, el dominio transmembrana tiene una secuencia que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 8. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización coestimuladora 4-1BB tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 12. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización coestimuladora 4-1BB tiene una secuencia con al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 12. En algunas divulgaciones, el dominio CD3-zeta tiene la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 13. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización CD3zeta tiene una secuencia que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma. En algunas divulgaciones, el CAR dirigido a CD19 se une a CD19 y media la producción de citocinas y/o la actividad citotóxica contra las células diana CD 19+ cuando se expresa en un linfocito T y se estimula a través del CAR, tal como mediante la unión a CD 19.

En algunas divulgaciones, las moléculas de ácido nucleico que codifican dichas construcciones de CAR incluyen además una secuencia que codifica un elemento de omisión ribosómica T2A y/o una secuencia de tEGFR, por ejemplo, en dirección 3' de la secuencia que codifica el CAR. En algunas divulgaciones, la secuencia codifica un elemento de omisión ribosómica T2A expuesto en la SEQ ID NO: 6 o 17, o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 6 u 17. En algunas divulgaciones, también pueden generarse linfocitos T que expresan un receptor de antígeno (por ejemplo, CAR) para expresar un EGFR truncado (EGFRt) como un epítopo de selección no inmunogénico (por ejemplo, mediante la introducción de una construcción que codifica el CAR y el EGFRt separados por un interruptor de ribosoma T2A para expresar dos proteínas de la misma construcción), que después puede usarse como un marcador para detectar dichas células (véase, por ejemplo, la Patente de los EE.UU. N.º 8.802.374). En algunas divulgaciones, la secuencia codifica una secuencia de tEGFR expuesta en la SEQ ID NO: 7 o 16, o una secuencia de aminoácidos que presenta al menos un 85 %, 86 %, 87 %,

88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la SEQ ID NO: 7 u 16. En algunos casos, el péptido, tales como T2A, puede provocar que el ribosoma omita (omisión ribosómica) la síntesis de un enlace peptídico en el extremo C-terminal de un elemento 2A, conduciendo a la separación entre el final de la secuencia 2A y el siguiente péptido en dirección 3' (véase, por ejemplo, de Felipe. *Genetic Vaccines and Ther.* 2:13 (2004) y deFelipe et al. Traffic 5:616-626 (2004)). Se conocen muchos elementos 2A. Se divulgan en el presente documento ejemplos de secuencias 2A que pueden usarse en los métodos y ácidos nucleicos, sin limitación, 2A secuencias del virus de la fiebre aftosa (F2A, *p. ej.*, SEQ ID NO: 21), virus de la rinitis A equina (E2A, *p. ej.*, SEQ ID NO: 20), virus Thosea asigna (T2A, *p. ej.*, SEQ ID NO: 6 o 17) y teschovirus-1 porcino (P2A, *p. ej.*, SEQ ID NO: 18 o 19) como se describe en la Publicación de Patente de los EE.UU. N.º 20070116690.

Los receptores recombinantes, tales como los CAR, expresados por las células administradas al sujeto generalmente reconocen o se unen específicamente a una molécula que se expresa en, se asocia a y/o es específica para la enfermedad o afección o células de la misma que se están tratando. Tras la unión específica a la molécula, por ejemplo, antígeno, el receptor generalmente envía una señal inmunoestimuladora, tal como una señal transducida por ITAM, en la célula, promoviendo de ese modo una respuesta inmunitaria dirigida a la enfermedad o afección. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, las células expresan un CAR que se une específicamente a un antígeno expresado por una célula o tejido de la enfermedad o afección o asociado a la enfermedad o afección.

B. Receptores de linfocitos T (TCR)

En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética, tal como linfocitos T, utilizadas en relación con los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones que se divulgan son células que expresan un receptor de linfocitos T (TCR) o una porción de unión a antígeno del mismo que reconoce un epítopo peptídico o un epítopo de linfocitos T de un polipéptido diana, tal como un antígeno de un tumor, proteína viral o autoinmune.

En algunas divulgaciones, un "receptor de linfocitos T" o "TCR" es una molécula que contiene cadenas α y β variables (también conocidas como TCRα y TCRβ, respectivamente) o cadenas γ y δ variables (también conocidas como TCRα y TCRβ, respectivamente), o porciones de unión a antígeno de las mismas, y que es capaz de unirse específicamente a un péptido unido a una molécula de MHC. En algunas divulgaciones, el TCR está en la forma αβ. Normalmente, los TCR que existen en las formas αβ y γδ son generalmente estructuralmente similares, pero los linfocitos T que las expresan pueden tener distintas ubicaciones o funciones anatómicas. Un TCR puede encontrarse en la superficie de una célula o en forma soluble. En general, un TCR se encuentra en la superficie de los linfocitos T (o células T) donde generalmente es responsable de reconocer antígenos unidos a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus sigla en inglés).

A menos que se indique otra cosa, debe entenderse que el término "TCR" abarca TCR completos, así como porciones de unión a antígeno o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En algunas divulgaciones, el TCR es un TCR intacto o de longitud completa, incluyendo TCR en la forma αβ o forma γδ. En algunas divulgaciones, el TCR es una porción de unión a antígeno que es menor que un TCR de longitud completa pero que se une a un péptido específico unido en una molécula de MHC, tal como se une a un complejo MHC-péptido. En algunos casos, una porción o fragmento de unión a antígeno de un TCR puede contener solamente una porción de los dominios estructurales de un TCR de longitud completa o intacto, pero aún es capaz de unirse al epítopo peptídico, tal como el complejo MHC-péptido, al que se une el TCR completo. En algunos casos, una porción de unión a antígeno contiene los dominios variables de un TCR, tal como la cadena α variable y la cadena β variable de un TCR, suficientes para formar un sitio de unión para unirse a un complejo MHC-péptido específico. En general, las cadenas variables de un TCR contienen regiones determinantes de la complementariedad implicadas en el reconocimiento del péptido, MHC y/o complejo MHC-péptido.

En algunas divulgaciones, los dominios variables del TCR contienen bucles hipervariables o regiones determinantes de la complementariedad (CDR), que generalmente son los principales contribuyentes al reconocimiento de antígenos y las capacidades y especificidad de unión. En algunas divulgaciones, una CDR de un TCR o una combinación de la misma forma todo o sustancialmente todo el sitio de unión a antígeno de una molécula de TCR dada. Las diversas CDR dentro de una región variable de una cadena de TCR generalmente están separadas por regiones marco conservadas (FR), que generalmente muestran menos variabilidad entre las moléculas de TCR en comparación con las CDR (véase, por ejemplo, Jores *et al.*, Proc. Nat'1 Acad. Sci. U.S.A. 87:9138, 1990; Chothia *et al.*, EMBO J. 7:3745, 1988; véase también Lefranc et al., *Dev. Comp. inmunol.* 27:55, 2003). En algunas divulgaciones, CDR3 es la CDR principal responsable de la unión o especificidad de antígeno, o es la más importante entre las tres CDR en una región variable de TCR dada para el reconocimiento de antígeno y/o para la interacción con la porción peptídica procesada del complejo péptido-MHC. En algunos contextos, la CDR1 de la cadena alfa puede interactuar con la parte N-terminal de determinados péptidos antigénicos. En algunos contextos, CDR1 de la cadena beta puede interactuar con la parte C-terminal del péptido. En algunos contextos, CDR2 contribuye más fuertemente a o es la CDR primaria responsable de la interacción con o el reconocimiento de la porción de MHC del complejo de MHC-péptido. En algunas divulgaciones, la región variable de la cadena β puede contener una región hipervariable adicional (CDR4 o HVR4), que generalmente está implicada en la unión de superantígenos y no en el reconocimiento de antígenos (Kotb (1995) *Clinical Microbiology Reviews*, 8:411-426).

En algunas divulgaciones, un TCR también puede contener un dominio constante, un dominio transmembrana y/o una cola citoplasmática corta (véase, por ejemplo, Janeway *et al.*, *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, 3.ª Ed., *Current Biology Publications*, pág. 4:33, 1997). En algunas divulgaciones, cada cadena del TCR puede poseer un dominio variable de inmunoglobulina N-terminal, un dominio constante de inmunoglobulina, una región transmembrana y una cola citoplasmática corta en el extremo C-terminal. En algunas divulgaciones, un TCR está asociado a proteínas invariantes del complejo CD3 implicadas en la mediación de la transducción de señales.

En algunas divulgaciones, una cadena de TCR contiene uno o más dominios constantes. Por ejemplo, la porción extracelular de una cadena de TCR dada (por ejemplo, cadena α o cadena β) puede contener dos dominios similares a inmunoglobulina, tales como un dominio variable (por ejemplo, Vα o Vβ; normalmente los aminoácidos 1 a 116 basados en la numeración de Kabat, Kabat et al., "*Sequences of Proteins of Immunological Interest*", Departamento de Salud y Servicios Sociales de los EE.UU., Servicio de Salud Pública Institutos Nacionales de Salud, 1991, 5.ª ed.) y un dominio constante (por ejemplo, dominio constante de cadena α o Cα, normalmente las posiciones 117 a 259 de la cadena basadas en la numeración de Kabat o el dominio constante de la cadena β o C_β, normalmente las posiciones 117 a 295 de la cadena basadas en Kabat) adyacentes a la membrana celular. Por ejemplo, en algunos casos, la porción extracelular del TCR formada por las dos cadenas contiene dos dominios constantes proximales a la membrana y dos dominios variables distales a la membrana, dominios variables que contienen cada uno CDR. El dominio constante del TCR puede contener secuencias de conexión cortas en las que un resto cisteína forma un enlace disulfuro, uniendo así las dos cadenas del TCR. En algunas divulgaciones, un TCR puede tener un resto cisteína adicional en cada una de las cadenas α y β, de manera que el TCR contiene dos enlaces disulfuro en los dominios constantes.

En algunas divulgaciones, las cadenas de TCR contienen un dominio transmembrana. En algunas divulgaciones, el dominio transmembrana tiene carga positiva. En algunos casos, la cadena de TCR contiene una cola citoplasmática. En algunos casos, la estructura permite que el TCR se asocie a otras moléculas como CD3 y subunidades de la misma. Por ejemplo, un TCR que contiene dominios constantes con una región transmembrana puede anclar la proteína en la membrana celular y asociarse a subunidades invariantes del aparato o complejo de señalización de CD3. Las colas intracelulares de las subunidades de señalización de CD3 (por ejemplo, cadenas CD3y, CD3δ, CD3ε y CD3ζ) contienen uno o más motivos de activación basados en tirosina inmunorreceptores o ITAM que están implicados en la capacidad de señalización del complejo de TCR.

En algunas divulgaciones, el TCR puede ser un heterodímero de dos cadenas α y β (u opcionalmente γ y δ) o puede ser una construcción de TCR monocatenaria. En algunas divulgaciones, el TCR es un heterodímero que contiene dos cadenas separadas (cadenas α y β o cadenas γ y δ) que están unidas, tal como por un enlace disulfuro o enlaces disulfuro.

En algunas divulgaciones, el TCR puede generarse a partir de una o más secuencias de TCR conocidas, tales como secuencias de cadenas Vα,β, para las que hay fácilmente disponible una secuencia codificante sustancialmente de longitud completa. Los métodos para obtener secuencias de TCR de longitud completa, incluyendo secuencias de cadenas V, de fuentes celulares, son bien conocidas. En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos que codifican el TCR pueden obtenerse de una diversidad de fuentes, tal como mediante la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de ácidos nucleicos que codifican TCR dentro o aislados de una célula o células dadas, o la síntesis de secuencias de ADN de TCR disponibles públicamente.

En algunas divulgaciones, el TCR se obtiene de una fuente biológica, tal como de células tales como de un linfocito T (por ejemplo, linfocito T citotóxico), hibridomas de linfocitos T u otra fuente disponible públicamente. En algunas divulgaciones, los linfocitos T pueden obtenerse a partir de células aisladas *in vivo*. En algunas divulgaciones, el TCR es un TCR seleccionado tímicamente. En algunas divulgaciones, el TCR es un TCR restringido por neoepítopo. En algunas divulgaciones, los linfocitos T pueden ser un hibridoma o clon de linfocitos T cultivados. En algunas divulgaciones, el TCR o porción de unión a antígeno del mismo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede generarse sintéticamente a partir del conocimiento de la secuencia del TCR.

En algunas divulgaciones, el TCR se genera a partir de un TCR identificado o seleccionado a partir del cribado de una biblioteca de TCR candidatos contra un antígeno polipeptídico diana, o un epítopo de linfocito T diana del mismo. Las bibliotecas de TCR pueden generarse mediante la amplificación del repertorio de Vα y Vβ a partir de linfocitos T aislados de un sujeto, incluyendo las células presentes en las PBMC, bazo u otro órgano linfoide. En algunos casos, los linfocitos T pueden amplificarse a partir de linfocitos infiltrantes de tumores (TIL, por sus siglas en inglés). En algunas divulgaciones, las bibliotecas de TCR pueden generarse a partir de células $CD4^+$ o $CD8^+$. En algunas divulgaciones, los TCR pueden amplificarse a partir de una fuente de linfocitos T de un sujeto normal o sano, es decir, bibliotecas de TCR normales. En algunas divulgaciones, los TCR pueden amplificarse a partir de una fuente de linfocitos T de un sujeto enfermo, es decir, bibliotecas de TCR enfermas. En algunas divulgaciones, se usan cebadores degenerados para amplificar el repertorio de genes de Vα y Vβ, tal como mediante RT-PCR en muestras, tal como linfocitos T, obtenidos de seres humanos. En algunas divulgaciones, las bibliotecas de scTv pueden ensamblarse a partir de bibliotecas de Vα y Vβ sin activación previa en las que los productos amplificados se clonan o ensamblan para separarse mediante un enlazador. Dependiendo de la fuente del sujeto y las células, las

bibliotecas pueden ser específicas de alelo de HLA. Como alternativa, en algunas divulgaciones, las bibliotecas de TCR pueden generarse mediante mutagénesis o diversificación de una molécula de TCR parental o de armazón. En algunas divulgaciones, los TCR se someten a evolución dirigida, tal como mediante mutagénesis, por ejemplo, de la cadena α o β. En algunas divulgaciones, se alteran restos particulares dentro de las CDR del TCR. En algunas divulgaciones, los TCR seleccionados pueden modificarse mediante maduración de afinidad. En algunas divulgaciones, pueden seleccionarse linfocitos T específicos de antígeno, tal como mediante cribado para evaluar la actividad de CTL contra el péptido. En algunas divulgaciones, los TCR, por ejemplo, presentes en los linfocitos T específicas de antígeno, pueden seleccionarse, tal como mediante actividad de unión, por ejemplo, afinidad o avidez particular por el antígeno.

En algunas divulgaciones, el TCR o la porción de unión a antígeno del mismo es uno que se ha modificado o modificado por ingeniería genética. En algunas divulgaciones, se usan métodos de evolución dirigida para generar TCR con propiedades alteradas, tal como con mayor afinidad por un complejo MHC-péptido específico. En algunas divulgaciones, la evolución dirigida se consigue mediante métodos de presentación que incluyen, pero sin limitación, presentación en levadura (Holler *et al.* (2003) *Nat Immunol*, 4, 55-62; Holler *et al.* (2000) *Proc Natl Acad Sci USA*, 97, 5387-92), presentación en fagos (Li *et al.* (2005) *Nat Biotechnol*, 23, 349-54) o presentación en linfocitos T (Chervin *et al.* (2008) *J Immunol Methods*, 339, 175-84). En algunas divulgaciones, los enfoques de presentación implican modificación por ingeniería genética, o modificar, un TCR conocido, parental o de referencia. Por ejemplo, en algunos casos, puede usarse un TCR de tipo silvestre como molde para producir TCR mutagenizados en los que uno o más restos de las CDR están mutados, y se seleccionan mutantes con una propiedad alterada deseada, tal como una mayor afinidad por un antígeno diana deseado.

En algunas divulgaciones, los péptidos de un polipéptido diana para su uso en la producción o generación de un TCR de interés son conocidos o pueden identificarse fácilmente. En algunas divulgaciones, los péptidos adecuados para su uso en la generación de TCR o porciones de unión a antígeno pueden determinarse basándose en la presencia de un motivo restringido por HLA en un polipéptido diana de interés, tal como un polipéptido diana que se describe a continuación. En algunas divulgaciones, los péptidos se identifican usando modelos de predicción informáticos disponibles. En algunas divulgaciones, para predecir sitios de unión de MHC de clase I, dichos modelos incluyen, pero sin limitación, ProPred1 (Singh and Raghava (2001) Bioinformatics 17(12):1236-1237, y SYFPEITHI (véase Schuler et al. (2007) Immunoinformatics Methods in Molecular Biology, 409(1): 75-93 2007). En algunas divulgaciones, el epítopo restringido por MHC es HLA-A0201, que se expresa en aproximadamente el 39-46 % de todas las personas caucásicas y, por lo tanto, representa una elección adecuada de antígeno de MHC para su uso en la preparación de un TCR u otra molécula de unión a MHC-péptido.

Se conocen motivos de unión a HLA-A0201 y los sitios de escisión para proteasomas e inmunoproteasomas usando modelos de predicción por ordenador. Para predecir sitios de unión de MHC de clase I, dichos modelos incluyen, pero sin limitación, ProPred1 (que se describe con más detalle en Singh and Raghava, *ProPred: prediction of HLA-DR binding sites*. BIOINFORMATICS 17(12):1236-1237 2001), y SYFPEITHI (véase Schuler et al. SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. in Immunoinformatics Methods in Molecular Biology, vol 409(1): 75-93 2007)

En algunas divulgaciones, el TCR o la porción de unión a antígeno del mismo puede ser una proteína natural producida de forma recombinante o una forma mutada del mismo en la que una o más propiedades, tales como la característica de unión, se han alterado. En algunas divulgaciones, un TCR puede derivar de una de diversas especies animales, tales como ser humano, ratón, rata u otro mamífero. Un TCR puede estar unido a células o en forma soluble. En algunas divulgaciones, para los fines de los métodos que se divulgan, el TCR está en forma unida a la célula expresada en la superficie de una célula.

En algunas divulgaciones, el TCR es un TCR de longitud completa. En algunas divulgaciones, el TCR es una porción de unión a antígeno. En algunas divulgaciones, el TCR es un TCR dimérico (dTCR). En algunas divulgaciones, el TCR es un TCR monocatenario (sc-TCR). En algunas divulgaciones, un dTCR o scTCR tienen las estructuras que se describen en los documentos WO 03/020763, WO 04/033685, WO2011/044186.

En algunas divulgaciones, el TCR contiene una secuencia que corresponde a la secuencia transmembrana. En algunas divulgaciones, el TCR contiene una secuencia que corresponde a secuencias citoplasmáticas. En algunas divulgaciones, el TCR es capaz de formar un complejo de TCR con CD3. En algunas divulgaciones, cualquiera de los TCR, incluyendo un dTCR o scTCR, puede unirse a dominios de señalización que producen un TCR activo en la superficie de un linfocito T. En algunas divulgaciones, el TCR se expresa en la superficie de las células.

En algunas divulgaciones, un dTCR contiene un primer polipéptido en donde una secuencia que corresponde a una secuencia de región variable de cadena α de TCR se fusiona con el extremo N de una secuencia que corresponde a una secuencia extracelular de región constante de cadena α de TCR, y un segundo polipéptido en donde una secuencia que corresponde a una secuencia de región variable de cadena β de TCR se fusiona con el extremo N de una secuencia que corresponde a una secuencia extracelular de región constante de cadena β de TCR, estando unidos los polipéptidos primero y segundo por un enlace disulfuro. En algunas divulgaciones, el enlace puede corresponder al enlace disulfuro intercatenario nativo presente en los TCR αβ diméricos nativos. En algunas

divulgaciones, los enlaces disulfuro intercatenarios no están presentes en un TCR nativo. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, pueden incorporarse una o más cisteínas en las secuencias extracelulares de región constante del par de polipéptidos de dTCR. En algunos casos, puede ser deseable tanto un enlace disulfuro nativo como no nativo. En algunas divulgaciones, el TCR contiene una secuencia transmembrana para anclarse a la membrana.

En algunas divulgaciones, un dTCR contiene una cadena α de TCR que contiene un dominio α variable, un dominio α constante y un primer motivo de dimerización unido al extremo C del dominio α constante, y una cadena β de TCR que comprende un dominio β variable, un dominio β constante y un primer motivo de dimerización unido al extremo C del dominio β constante, en donde los motivos de dimerización primero y segundo interactúan fácilmente para formar un enlace covalente entre un aminoácido en el primer motivo de dimerización y un aminoácido en el segundo motivo de dimerización que une la cadena α de TCR y la cadena β de TCR entre sí.

En algunas divulgaciones, el TCR es un scTCR. Normalmente, puede generarse un scTCR usando métodos conocidos, Véase, por ejemplo, Soo Hoo, W. F. et al. PNAS (EE.UU.) 89, 4759 (1992); Wülfing, C. y Plückthun, A., J. Mol. Biol. 242, 655 (1994); Kurucz, I. et al. PNAS (EE.UU.) 90 3830 (1993); PCT publicada internacional N.º WO 96/13593, WO 96/18105, WO99/60120, WO99/18129, WO 03/020763, WO2011/044186; y Schlueter, C. J. *et al. J. Mol*. Biol. 256, 859 (1996). En algunas divulgaciones, un scTCR contiene un enlace intercatenario disulfuro no nativo introducido para facilitar la asociación de las cadenas de TCR (véase, por ejemplo, la PCT Internacional N.º WO 03/020763). En algunas divulgaciones, un scTCR es un TCR truncado no unido por disulfuro en el que las cremalleras de leucina heterólogas fusionadas con los extremos C del mismo facilitan la asociación de cadenas (véase, por ejemplo, la PCT Internacional N.º WO99/60120). En algunas divulgaciones, un scTCR contiene un dominio variable de TCRα unido covalentemente a un dominio variable de TCRβ a través de un enlazador peptídico (véase, por ejemplo, la PCT Internacional N.º WO99/18129).

En algunas divulgaciones, un scTCR contiene un primer segmento constituido por una secuencia de aminoácidos correspondiente a una región variable de cadena α de TCR, un segundo segmento constituido por una secuencia de aminoácidos que corresponde a una secuencia de región variable de cadena β de TCR fusionada con el extremo N de una secuencia de aminoácidos que corresponde a una secuencia extracelular de dominio constante de cadena β de TCR, y una secuencia enlazadora que une el extremo C del primer segmento al extremo N del segundo segmento.

En algunas divulgaciones, un scTCR contiene un primer segmento constituido por una secuencia de región variable de cadena α fusionada con el extremo N de una secuencia de dominio constante extracelular de cadena α, y un segundo segmento constituido por una secuencia de región variable de cadena β fusionada con el extremo N de una secuencia constante extracelular de cadena β y secuencia transmembrana, y, opcionalmente, una secuencia enlazadora que une el extremo C del primer segmento al extremo N del segundo segmento.

En algunas divulgaciones, un scTCR contiene un primer segmento constituido por una secuencia de región variable de cadena β de TCR fusionada con el extremo N de una secuencia de dominio constante extracelular de cadena β, y un segundo segmento constituido por una secuencia de región variable de cadena α fusionada con el extremo N de una secuencia constante extracelular de cadena α y secuencia transmembrana, y, opcionalmente, una secuencia enlazadora que une el extremo C del primer segmento al extremo N del segundo segmento.

En algunas divulgaciones, el enlazador de un scTCR que une los segmentos primero y segundo de TCR puede ser cualquier enlazador capaz de formar una única cadena polipeptídica, conservando al mismo tiempo la especificidad de unión a TCR. En algunas divulgaciones, la secuencia enlazadora puede tener, por ejemplo, la fórmula -P-AA-P- en donde P es prolina y AA representa una secuencia de aminoácidos en donde los aminoácidos son glicina y serina. En algunas divulgaciones, los segmentos primero y segundo están emparejados de manera que las secuencias de región variable de los mismos estén orientadas para dicha unión. Por lo tanto, en algunos casos, el enlazador tiene una longitud suficiente para abarcar la distancia entre el extremo C del primer segmento y el extremo N del segundo segmento, o viceversa, pero no es demasiado largo para bloquear o reducir la unión del scTCR al ligando diana. En algunas divulgaciones, el enlazador puede contener desde o de aproximadamente 10 a 45 aminoácidos, tal como de 10 a 30 aminoácidos o de 26 a 41 restos de aminoácidos, por ejemplo, 29, 30, 31 o 32 aminoácidos. En algunas divulgaciones, el enlazador tiene la fórmula - PGGG-$(SGGGG)_5$-P- en donde P es prolina, G es glicina y S es serina (SEQ ID NO: 28). En algunas divulgaciones, el enlazador tiene la secuencia GSADDAKKDAAKKDGKS (SEQ ID NO: 29)

En algunas divulgaciones, el scTCR contiene un enlace disulfuro covalente que une un resto de la región de inmunoglobulina del dominio constante de la cadena α a un resto de la región de inmunoglobulina del dominio constante de la cadena β. En algunas divulgaciones, el enlace disulfuro intercatenario en un TCR nativo no está presente. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, pueden incorporarse una o más cisteínas en las secuencias extracelulares de región constante de los segmentos primero y segundo del polipéptido de scTCR. En algunos casos, puede ser deseable tanto un enlace disulfuro nativo como no nativo.

En algunas divulgaciones de un dTCR o scTCR que contiene enlaces disulfuro intercatenarios introducidos, los enlaces disulfuro nativos no están presentes. En algunas divulgaciones, la una o más de las cisteínas nativas que

forman un enlace disulfuro intercatenario nativo se sustituyen por otro resto, tal como por una serina o alanina. En algunas divulgaciones, puede formarse un enlace disulfuro introducido mediante la mutación de restos no de cisteína en los segmentos primero y segundo a cisteína. Se describen enlaces disulfuro no nativos de ejemplo de un TCR en la PCT Internacional publicada N.º WO2006/000830.

En algunas divulgaciones, el TCR o fragmento de unión a antígeno del mismo presenta una afinidad con una constante de unión de equilibrio para un antígeno diana de entre o entre aproximadamente 10-5 y 10-12 M y todos los valores e intervalos individuales en el mismo. En algunas divulgaciones, el antígeno diana es un ligando o complejo MHC-péptido.

En algunas divulgaciones, el ácido nucleico o ácidos nucleicos que codifican un TCR, tal como cadenas α y β, puede amplificarse mediante PCR, clonación u otros medios adecuados y clonados en un vector o vectores de expresión adecuados. El vector de expresión puede ser cualquier vector de expresión recombinante adecuado y puede usarse para transformar o transfectar cualquier hospedador adecuado. Los vectores adecuados incluyen aquellos diseñados para propagación y expansión o para expresión o ambas cosas, tales como plásmidos y virus.

En algunas divulgaciones, el vector puede ser un vector de la serie pUC (Fermentas Life Sciences), la serie pBluescript (Stratagene, LaJolla, Calif.), la serie pET (Novagen, Madison, Wis.), la serie pGEX (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suecia) o la serie pEX (Clontech, Palo Alto, Calif.). En algunos casos, vectores de bacteriófagos, tales como λG10, λGT11, λZapII (Stratagene), λEMBL4 y λNM1149, también se puede utilizar. En algunas divulgaciones, pueden usarse vectores de expresión de plantas e incluyen pBI01, pBI101.2, pBI101.3, pBI121 y pBIN19 (Clontech). En algunas divulgaciones, los vectores de expresión de animales incluyen pEUK-Cl, pMAM y pMAMneo (Clontech). En algunas divulgaciones, se usa un vector vírico, tal como un vector retrovírico.

En algunas divulgaciones, los vectores de expresión recombinantes pueden prepararse usando técnicas de ADN recombinante convencionales. En algunas divulgaciones, los vectores pueden contener secuencias reguladoras, tales como codones de inicio y terminación de transcripción y traducción, que son específicos del tipo de hospedador (por ejemplo, bacteria, hongo, planta o animal) en el que se ha de introducir el vector, según sea adecuado y teniendo en cuenta si el vector se basa en ADN o ARN. En algunas divulgaciones, el vector puede contener un promotor no nativo unido operativamente a la secuencia de nucleótidos que codifica el TCR o la porción de unión a antígeno (u otra molécula de unión a MHC-péptido). En algunas divulgaciones, el promotor puede ser un promotor no vírico o un promotor vírico, tal como un promotor de citomegalovirus (CMV), un promotor de SV40, un promotor de RSV y un promotor que se encuentra en la repetición terminal larga del virus de células madre murinas. También se contemplan otros promotores conocidos.

En algunas divulgaciones, para generar un vector que codifica un TCR, las cadenas α y β se amplifican por PCR a partir de ADNc total aislado de un clon de linfocitos T que expresa el TCR de interés y se clonan en un vector de expresión. En algunas divulgaciones, las cadenas α y β se clonan en el mismo vector. En algunas divulgaciones, las cadenas α y β se clonan en vectores diferentes. En algunas divulgaciones, las cadenas α y β generadas se incorporan en un vector retrovírico, por ejemplo, lentivírico. Células modificadas genéticamente y métodos de producción de células

En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan implican administrar a un sujeto que tiene una enfermedad o afección células que expresan un receptor de antígeno recombinante. Se conocen bien diversos métodos para la introducción de componentes modificados genéticamente, por ejemplo, receptores recombinantes, por ejemplo, CAR o TCR, y pueden usarse con los métodos y composiciones que se divulgan. Los métodos de ejemplo incluyen aquellos para la transferencia de ácidos nucleicos que codifican los receptores, incluso vía vírica, por ejemplo, retrovírica o lentivírica, transducción, transposones y electroporación.

Entre las células que expresan los receptores y que se administran mediante los métodos que se divulgan se encuentran las células modificadas por ingeniería genética. La modificación por ingeniería genética generalmente implica la introducción de un ácido nucleico que codifica el componente recombinante o modificado por ingeniería genética en una composición que contiene las células, tal como mediante transducción, transfección o transformación retrovírica.

C. Receptores de autoanticuerpos quiméricos (CAAR)

En algunas divulgaciones, entre el receptor recombinante expresado por las células modificadas por ingeniería genética utilizado en relación con los métodos, usos, artículos de fabricación y composiciones transducción se encuentra un receptor de autoanticuerpo quimérico (CAAR). En algunas divulgaciones, el CAAR es específico para un autoanticuerpo. En algunas divulgaciones, una célula que expresa el CAAR, tal como un linfocito T modificado por ingeniería genética para expresar un CAAR, puede usarse para unirse específicamente y destruir células que expresan autoanticuerpos, pero no células normales que expresan anticuerpos. En algunas divulgaciones, pueden usarse células que expresan CAAR para tratar una enfermedad autoinmunitaria asociada a la expresión de autoantígenos, tal como enfermedades autoinmunitarias. En algunas divulgaciones, las células que expresan CAAR pueden dirigirse a linfocitos B que en última instancia producen los autoanticuerpos y presentan los autoanticuerpos

en sus superficies celulares, marcando estos linfocitos B como dianas específicas de la enfermedad para la intervención terapéutica. En algunas divulgaciones, pueden usarse células que expresan CAAR para dirigirse de manera eficiente y destruir los linfocitos B patógenos en enfermedades autoinmunitarias dirigiéndose a los linfocitos B que provocan la enfermedad usando un receptor de autoanticuerpo quimérico específico de antígeno. En algunas divulgaciones, el receptor recombinante es un CAAR, tal como cualquiera que se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º US 2017/0051035.En algunas divulgaciones, el CAAR comprende un dominio de unión de a autoanticuerpo, un dominio transmembrana y una región de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, la región de señalización intracelular comprende un dominio de señalización intracelular. En algunas divulgaciones, el dominio de señalización intracelular es o comprende un dominio de señalización primaria, un dominio de señalización que es capaz de inducir una señal de activación primaria en un linfocito T, un dominio de señalización de un componente receptor de linfocitos T (TCR) y/o un dominio de señalización que comprende un motivo de activación basado en tirosina inmunorreceptor (ITAM). En algunas divulgaciones, la región de señalización intracelular comprende una región de señalización secundaria o coestimuladora (regiones de señalización intracelular secundaria).

En algunas divulgaciones, el dominio de unión de autoanticuerpo comprende un autoantígeno o un fragmento del mismo. La elección del autoantígeno puede depender del tipo de autoanticuerpo al que se dirige. Por ejemplo, el autoantígeno puede elegirse porque reconoce un autoanticuerpo en una célula diana, tal como un linfocito B, asociado a una patología particular, por ejemplo, una enfermedad autoinmunitaria, tal como una enfermedad autoinmunitaria mediada por autoanticuerpos. En algunas divulgaciones, la enfermedad autoinmunitaria incluye pénfigo vulgar (PV). Los autoantígenos de ejemplo incluyen desmogleína 1 (Dsg1) y Dsg3.

D. Direccionamiento múltiple

En algunas divulgaciones, las células utilizadas en relación con los métodos, usos, artículos de fabricación y composiciones que se divulgan incluyen células que emplean estrategias de direccionamiento múltiple, tales como la expresión de dos o más receptores modificados genéticamente en la célula, reconociendo cada uno el mismo antígeno o uno diferente y normalmente incluyendo cada uno un componente de señalización intracelular diferente. Dichas estrategias de direccionamiento múltiple se describen, por ejemplo, en la Solicitud de Patente Internacional, Publicación N.º: WO 2014055668 A1 (que describe combinaciones de CAR activadores y coestimuladores, por ejemplo, que se dirigen a dos antígenos diferentes presentes individualmente fuera de la diana, por ejemplo, células normales, pero presentes juntos solamente en las células de la enfermedad o afección que ha de tratarse) y Fedorov *et al.*, Sci. Transl. *Medicine*, 5(215) (2013) (que describen células que expresan un CAR activador y uno inhibidor, tales como aquellas en las que el CAR activador se une a un antígeno expresado tanto en células normales o no enfermas como en células de la enfermedad o afección que ha de tratarse, y el CAR inhibidor se une a otro antígeno expresado solamente en las células normales o células que no se desean tratar).

Por ejemplo, en algunas divulgaciones, las células incluyen un receptor que expresa un primer receptor de antígeno modificado genéticamente (por ejemplo, CAR o TCR) que es capaz de inducir una señal activadora o estimulación a la célula, generalmente tras la unión específica al antígeno reconocido por el primer receptor, por ejemplo, el primer antígeno. En algunas divulgaciones, la célula incluye además un segundo receptor de antígeno modificado genéticamente (por ejemplo, CAR o TCR), por ejemplo, un receptor coestimulador quimérico, que es capaz de inducir una señal coestimuladora a la célula inmunitaria, generalmente tras la unión específica a un segundo antígeno reconocido por el segundo receptor. En algunas divulgaciones, el primer antígeno y el segundo antígeno son iguales. En algunas divulgaciones, el primer antígeno y el segundo antígeno son diferentes.

En algunas divulgaciones, el primer y/o el segundo receptor de antígeno modificado genéticamente (por ejemplo, CAR o TCR) son capaces de inducir una señal activadora a la célula. En algunas divulgaciones, el receptor incluye un componente de señalización intracelular que contiene ITAM o motivos similares a ITAM. En algunas divulgaciones, la activación inducida por el primer receptor implica una transducción de señales o un cambio en la expresión de proteínas en la célula que da como resultado el inicio de una respuesta inmunitaria, tal como la fosforilación de ITAM y/o el inicio de la cascada de transducción de señales mediada por ITAM, la formación de una sinapsis inmunitaria y/o la agrupación de moléculas cerca del receptor unido (por ejemplo, CD4 o CD8, etc.), la activación de uno o más factores de transcripción, tales como NF-κB y/o AP-1, y/o la inducción de la expresión génica de factores tales como citocinas, la proliferación y/o la supervivencia.

En algunas divulgaciones, el primer y/o el segundo receptor incluyen dominios de señalización intracelular o regiones de receptores coestimuladores tales como CD28, CD137 (4-1BB), OX40 y/o ICOS. En algunas divulgaciones, el primer y el segundo receptor incluyen un dominio de señalización intracelular de un receptor coestimulador que son diferentes. En una divulgación, el primer receptor contiene una región de señalización coestimuladora de CD28 y el segundo receptor contiene una región de señalización coestimuladora de 4-1BB o viceversa.

En algunas divulgaciones, el primer y/o el segundo receptor incluyen tanto un dominio de señalización intracelular que contiene ITAM o motivos similares a ITAM como un dominio de señalización intracelular de un receptor

coestimulador.

En algunas divulgaciones, el primer receptor contiene un dominio de señalización intracelular que contiene ITAM o motivos similares a ITAM y el segundo receptor contiene un dominio de señalización intracelular de un receptor coestimulador. La señal coestimuladora en combinación con la señal activadora inducida en la misma célula es una que da como resultado una respuesta inmunitaria, tal como una respuesta inmunitaria robusta y sostenida, tal como el aumento de la expresión génica, la secreción de citocinas y otros factores, y funciones efectoras mediadas por linfocitos T tales como la destrucción celular.

En algunas divulgaciones, ni la ligadura del primer receptor solo ni la ligadura del segundo receptor solo inducen una respuesta inmunitaria robusta. En algunas divulgaciones, si solo se liga un receptor, la célula se vuelve tolerante o no responde al antígeno, o se inhibe, y/o no se induce a proliferar o secretar factores o realizar funciones efectoras. En algunas de dichas divulgaciones, sin embargo, cuando se liga la pluralidad de receptores, tal como tras el encuentro de una célula que expresa los antígenos primero y segundo, se consigue una respuesta deseada, tal como la activación o estimulación inmunitaria completa, por ejemplo, como se indica por la secreción de una o más citocinas, proliferación, la persistencia y/o la realización de una función efectora inmunitaria tal como la destrucción citotóxica de una célula diana.

En algunas divulgaciones, los dos receptores inducen, respectivamente, una señal activadora y una inhibidora a la célula, de manera que la unión de uno de los receptores a su antígeno activa la célula o induce una respuesta, pero la unión por el segundo receptor inhibidor a su antígeno induce una señal que suprime o amortigua esa respuesta. Son ejemplos las combinaciones de CAR activadores y CAR inhibidores o iCAR. Puede usarse una estrategia de este tipo, por ejemplo, en la que el CAR activador se une a un antígeno expresado en una enfermedad o afección, pero que también se expresa en células normales, y el receptor inhibidor se une a un antígeno separado que se expresa en las células normales, pero no en las células de la enfermedad o afección.

En algunas divulgaciones, la estrategia de direccionamiento múltiple se emplea en un caso en el que un antígeno asociado a una enfermedad o afección particular se expresa en una célula no enferma y/o se expresa en la propia célula modificada por ingeniería genética, ya sea transitoriamente (por ejemplo, tras la estimulación en asociación con modificación genética) o permanentemente. En estos casos, al requerir la ligadura de dos receptores de antígenos separados e individualmente específicos, la especificidad, la selectividad y/o la eficacia pueden mejorar.

En algunas divulgaciones, la pluralidad de antígenos, por ejemplo, los antígenos primero y segundo, se expresan en la célula, tejido o enfermedad o afección a la que se dirigen, tal como en la célula cancerosa. En algunas divulgaciones, la célula, tejido, enfermedad o afección es mieloma múltiple o una célula de mieloma múltiple. En algunas divulgaciones, uno o más de la pluralidad de antígenos generalmente también se expresan en una célula a la que no se desea dirigirse con la terapia celular, tal como una célula o tejido normal o no enfermo, y/o las propias células modificadas por ingeniería genética. En dichas divulgaciones, al requerir la ligadura de múltiples receptores para conseguir una respuesta de la célula, se consigue especificidad y/o eficacia.

E. Métodos de modificación por ingeniería genética de células

En divulgaciones particulares, las células modificadas por ingeniería genética se producen mediante un proceso que genera una composición de salida de linfocitos T enriquecidos a partir de una o más composiciones de entrada y/o a partir de una única muestra biológica. En determinadas divulgaciones, la composición de salida contiene células que expresan un receptor recombinante, por ejemplo, un CAR, tal como un CAR anti-CD 19. En divulgaciones particulares, las células de las composiciones de salida son adecuadas para su administración a un sujeto como terapia, por ejemplo, una terapia celular autóloga. En algunas divulgaciones, la composición de salida es una composición de linfocitos T CD4+ o CD8+ enriquecidos.

En algunas divulgaciones, el proceso para generar o producir células modificadas por ingeniería genética es mediante un proceso que incluye algunas o todas las etapas de: recoger u obtener una muestra biológica; aislar, seleccionar o enriquecer células de entrada de la muestra biológica; crioconservar y almacenar las células de entrada; descongelar y/o incubar las células de entrada en condiciones estimuladoras; modificar por ingeniería genética las células estimuladas para expresar o contener un polinucleótido recombinante, por ejemplo, un polinucleótido que codifica un receptor recombinante tal como un CAR; cultivar las células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, a una cantidad, densidad o expansión umbral; formular las células cultivadas en una composición de salida; y/o crioconservar y almacenar las células de salida formuladas hasta que las células se liberen para la infusión y/o sean adecuadas para administrarse a un sujeto. En determinadas divulgaciones, el proceso se realiza con dos o más composiciones de entrada de linfocitos T enriquecidos, tales como una composición de CD4+ separada y una composición de CD8+ separada, que se procesan y se modifican por ingeniería genética por separado a partir de la misma muestra biológica de partida o inicial y se reinfunden de nuevo en el sujeto en una relación definida, por ejemplo, relación 1:1 de linfocitos T CD4+ a CD8+. En algunas divulgaciones, los linfocitos T enriquecidos son o incluyen linfocitos T modificados por ingeniería genética, por ejemplo, linfocitos T transducidos para expresar un receptor recombinante.

En divulgaciones particulares, se produce una composición de salida de células modificadas por ingeniería genética que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR anti-CD19) a partir de una composición inicial y/o de entrada de células. En algunas divulgaciones, la composición de entrada es una composición de linfocitos T enriquecidos, linfocitos T CD4+ enriquecidos y/o linfocitos T CD8+ enriquecidos (en lo sucesivo en el presente documento también denominadas composiciones de linfocitos T enriquecidos, composiciones de linfocitos T CD4+ enriquecidos y composiciones de linfocitos T CD8+ enriquecidos, respectivamente). En algunas divulgaciones, una composición enriquecida en linfocitos T CD4+ contiene al menos un 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 99,9 % de linfocitos T CD4+. En divulgaciones particulares, la composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos contiene un 100 % de linfocitos T CD4+ y contiene aproximadamente un 100 % de linfocitos T CD4+. En determinadas divulgaciones, la composición de linfocitos T enriquecidos incluye o contiene menos del 20 %, menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 1 %, menos del 0,1 % o menos del 0,01 % de linfocitos T CD8+, y/o no contiene linfocitos T CD8+, y/o está libre o sustancialmente libre de linfocitos T CD8+. En algunas divulgaciones, las poblaciones de células consisten esencialmente en linfocitos T CD4+. En algunas divulgaciones, una composición enriquecida en linfocitos T CD8+ contiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o 99,9 % de linfocitos T CD8+, o contiene o contiene aproximadamente el 100 % de linfocitos T CD8+. En determinadas divulgaciones, la composición de linfocitos T CD8+ enriquecidos incluye o contiene menos del 20 %, menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 1 %, menos del 0,1 % o menos del 0,01 % de linfocitos T CD4+, y/o no contiene linfocitos T CD4+, y/o está libre o sustancialmente libre de linfocitos T CD4+. En algunas divulgaciones, las poblaciones de células consisten esencialmente en linfocitos T CD8+.

En determinadas divulgaciones, el proceso para producir células modificadas por ingeniería genética puede incluir además uno o más de: activar y/o estimular células, por ejemplo, células de una composición de entrada; modificar genéticamente las células activadas y/o estimuladas, por ejemplo, para introducir un polinucleótido que codifica una proteína recombinante por transducción o transfección; y/o cultivar las células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, en condiciones que promueven la proliferación y/o expansión. En divulgaciones particulares, los métodos que se divulgan pueden usarse en relación con la recolección, recogida y/o formulación de composiciones de salida producidas después de que las células se hayan incubado, activado, estimulado, modificado por ingeniería genética, transducido, transfectado y/o cultivado.

En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética, tales como aquellas que expresan un CAR anti-CD 19 como se describe, utilizadas de acuerdo con los métodos y usos que se divulgan se producen o generan mediante un proceso para seleccionar, aislar, activar, estimular, expandir, cultivar y/o formular células. En algunas divulgaciones, dichos métodos incluyen cualquiera de los que se describen.

En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética, tales como aquellas que expresan un CAR anti-CD 19 como se describe, utilizadas de acuerdo con los métodos y usos que se divulgan, se producen o generan mediante procesos de ejemplo como se describe en, por ejemplo, los documentos WO 2019/089855 y WO 2015/164675.

En algunas de cualquiera de las divulgaciones, los procesos de ejemplo para generar, producir o fabricar las células modificadas por ingeniería genética, tales como aquellas que expresan un CAR anti-CD 19 como se describe, o una composición que comprende dichas células, tal como una composición que comprende linfocitos T CD4+ modificados por ingeniería genética y linfocitos T CD8+ modificados por ingeniería genética, expresando cada uno el mismo receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19, implican someter poblaciones de células CD4+ enriquecidas y CD8+ enriquecidas, por separado, a etapas de proceso. En algunas divulgaciones del proceso de ejemplo para generar o fabricar células modificadas por ingeniería genética, las células CD4+ y CD8+ se seleccionan por separado de células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC, por sus siglas en inglés), por ejemplo, que se obtienen por leucocitaféresis, generando composiciones de células CD4+ enriquecidas y CD8+ enriquecidas separadas. En algunas divulgaciones, dichas células pueden crioconservarse. En algunas divulgaciones, las composiciones de CD4+ y CD8+ pueden descongelarse posteriormente y someterse por separado a etapas de estimulación, transducción y expansión.

En algunas divulgaciones del proceso de ejemplo para generar o fabricar células modificadas por ingeniería genética, las células CD4+ y CD8+ descongeladas se estimulan por separado, por ejemplo, en presencia de perlas recubiertas de poliestireno paramagnéticas acopladas a anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 (tal como en una relación de perlas a células 1:1). En algunas divulgaciones, la estimulación se realiza en medios que contienen IL-2 recombinante humana, IL-15 recombinante humana y N-acetilcisteína (NAC). En algunas divulgaciones, los medios de cultivo celular para células CD4+ también pueden incluir IL-7 recombinante humana.

En algunas divulgaciones del proceso de ejemplo para generar o fabricar células modificadas por ingeniería genética, después de la introducción de las perlas, las células CD4+ y CD8+ se transducen por separado con un vector lentivírico que codifica el mismo CAR, tal como el mismo CAR anti-CD 19. En algunas divulgaciones, el CAR puede contener un scFv anti-CD 19 derivado de un anticuerpo murino, un espaciador de inmunoglobulina, un dominio transmembranario derivado de CD28, una región coestimuladora derivada de 4-1BB y un dominio de señalización intracelular de CD3-zeta. En algunas divulgaciones, el vector puede codificar un receptor truncado que sirve como marcador sustituto para la expresión de CAR que está conectado a la construcción de CAR por una

secuencia T2A. En algunas divulgaciones del proceso ilustrativo, las células se transducen en presencia de sulfato de protamina 10 µg/ml.

En algunas divulgaciones del proceso de ejemplo para generar o fabricar células modificadas por ingeniería genética, después de la transducción, las perlas se retiran de las composiciones celulares mediante la exposición a un campo magnético. En algunas divulgaciones, las composiciones de células CD4+ y CD8+ se cultivan por separado para su expansión con mezcla continua y transferencia de oxígeno mediante un biorreactor (por ejemplo, un biorreactor Xuri W25). En algunos casos, se añade poloxámero al medio. En algunas divulgaciones, las composiciones de células tanto CD4+ como CD8+ se cultivan en presencia de IL-2 e IL-15. En algunas divulgaciones, el medio de células CD4+ también incluía IL-7. En algunos casos, las células CD4+ y CD8+ se cultivan cada una, antes de la recogida, a una expansión cuádruple. En algunas divulgaciones, un día después de alcanzar el umbral, las células de cada composición pueden recogerse, formularse y crioconservarse por separado. En algunas divulgaciones, los procesos de ejemplo para generar, producir o fabricar las células modificadas por ingeniería genética, tales como aquellas que expresan un CAR anti-CD 19 como se describe, o una composición que comprende dichas células, tal como una composición que comprende linfocitos T CD4+ modificados por ingeniería genética y linfocitos T CD8+ modificados por ingeniería genética, expresando cada uno el mismo receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19, incluyen aquellos que se describen en la Tabla 11 a continuación.

Tabla 11: Proceso de ejemplo para generar linfocitos T-CAR CD4+ y CD8+

Fase	**Células CD4+**	**Células CD8+**
Estimulación (día 1-2)	• perlas conjugadas con anticuerpo anti-CD3/CD28	• perlas conjugadas con anticuerpo anti-CD3/CD28
	• relación de perla a célula 1:1	• relación de perla a célula 1:1
	• medio: IL-2, IL-7, IL-15 y NAC	• medio: IL-2, IL-15 y NAC
Transducción (día 2-5)	• adyuvante de transducción (por ejemplo, sulfato de protamina 10 µg/ml)	• adyuvante de transducción (por ejemplo, sulfato de protamina 10 µg/ml)
Retirada de perlas (día 5*)	• retirada de perlas magnéticas	• retirada de perlas magnéticas
Expansión (día 5* - Recogida)	• biorreactor de movimiento oscilante y/o mezcla continua	• biorreactor de movimiento oscilante y/o mezcla continua
	• medio: IL-2, IL-7, IL15 y poloxámero	• medio: IL-2, IL15 y poloxámero
*Aproximado		

En otras divulgaciones, un proceso de ejemplo diferente para generar, producir o fabricar las células modificadas por ingeniería genética o una composición que comprende dichas células incluye un proceso que difiere del proceso de ejemplo anterior en que: no se añade NAC al medio durante la estimulación; el medio de células CD4+ no contiene IL-2; las células se estimulan en una relación de perla a célula de 3:1; las células se transducen con una concentración mayor de sulfato de protamina; la retirada de perlas se produce aproximadamente el día 7; y la expansión se realiza en un ajuste estático, es decir, sin mezcla o perfusión continua (por ejemplo, perfusión semicontinua y/o por etapas) y sin poloxámero.

En algunas divulgaciones, al menos una composición separada de linfocitos T CD4+ enriquecidos y al menos una composición separada de linfocitos T CD8+ enriquecidos se aíslan, seleccionan, enriquecen u obtienen a partir de una única muestra biológica, por ejemplo, una muestra de PBMC u otros leucocitos del mismo donante, tal como un paciente o individuo sano. En algunas divulgaciones, se originó una composición separada de linfocitos T CD4+ enriquecidos y una composición separada de linfocitos T CD8+ enriquecidos, por ejemplo, inicialmente se aislaron, seleccionaron y/o enriquecieron, a partir de la misma muestra biológica, tal como una única muestra biológica obtenida, recogida y/o tomada de un único sujeto. En algunas divulgaciones, una muestra biológica se somete en primer lugar a la selección de linfocitos T CD4+, donde quedan retenidas tanto las fracciones negativas como las positivas, y la fracción negativa se somete adicionalmente a la selección de linfocitos T CD8+. En otras divulgaciones, una muestra biológica se somete en primer lugar a la selección de linfocitos T CD8+, donde quedan retenidas tanto las fracciones negativas como las positivas, y la fracción negativa se somete adicionalmente a la selección de linfocitos T CD4+. En algunas divulgaciones, se realizan métodos de selección como se describe en la Publicación PCT Internacional N.º WO2015/164675. En algunas divulgaciones, se realizan métodos de selección como se describe en la Publicación PCT Internacional N.º WO 2019/089855. En algunas divulgaciones, una muestra biológica se selecciona positivamente en primer lugar para que los linfocitos T CD8+ generen al menos una composición de linfocitos T CD8+ enriquecidos, y después la fracción negativa se selecciona positivamente para que los linfocitos T CD4+ generen al menos una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos, de manera que la al menos una composición de linfocitos T CD8+ enriquecidos y la al menos una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos sean composiciones separadas de la misma muestra biológica, por ejemplo, del mismo paciente donante o individuo sano. En algunas divulgaciones, dos o más composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos, por ejemplo, una siendo al menos una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos y una siendo al menos una composición separada de linfocitos T CD8+ enriquecidos del mismo donante, se congelan por separado, por ejemplo, se crioprotege o se crioconserva en un medio de crioconservación.

En algunas divulgaciones, dos o más composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos, por ejemplo, una siendo al menos una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos y una siendo al menos una composición separada de linfocitos T CD8+ enriquecidos de la misma muestra biológica, se activan y/o estimulan por contacto con un reactivo estimulador (por ejemplo, mediante incubación con perlas magnéticas conjugadas CD3/CD28 para la activación de linfocitos T). En algunas divulgaciones, cada una de las composiciones celulares activadas/estimuladas se modifica por ingeniería genética, se transduce y/o se transfecta, por ejemplo, usando un vector vírico que codifica una proteína recombinante (por ejemplo, CAR), para expresar la misma proteína recombinante en los linfocitos T CD4+ y los linfocitos T CD8+ de cada composición celular. En algunas divulgaciones, el método comprende retirar el reactivo estimulador, por ejemplo, perlas magnéticas, de la composición celular. En algunas divulgaciones, una composición celular que contiene linfocitos T CD4+ modificados por ingeniería genética y una composición celular que contiene linfocitos T CD8+ modificados por ingeniería genética se cultivan por separado, por ejemplo, para la expansión separada de las poblaciones de linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+ en las mismas. En determinadas divulgaciones, se cosecha y/o se recoge y/o se formula una composición celular a partir del cultivo, por ejemplo, lavando la composición celular en un tampón de formulación. En determinadas divulgaciones, una composición celular formulada que comprende linfocitos T CD4+ y una composición celular formulada que comprende linfocitos T CD8+ se congela, por ejemplo, se crioprotege o se crioconserva en un medio de crioconservación. En algunas divulgaciones, los linfocitos T CD4+ modificados por ingeniería genética y los linfocitos T CD8+ modificados por ingeniería genética en cada formulación se originan a partir del mismo donante o muestra biológica y expresan la misma proteína de recombinación (por ejemplo, CAR, tal como CAR anti-CD19). En algunas divulgaciones, una formulación de CD4+ modificada por ingeniería genética separada y una formulación de CD8+ modificada por ingeniería genética separada se administran en una relación definida, por ejemplo, 1:1, a un sujeto que lo necesite, tal como el mismo donante.

1. Células y preparación de células para modificación por ingeniería genética

En algunas divulgaciones, las células, tal como linfocitos T, utilizadas en relación con los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones que se divulgan son células que se han modificado genéticamente para expresar un receptor recombinante, por ejemplo, un CAR o un TCR que se describen en el presente documento. En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética se usan en el contexto de la terapia celular, por ejemplo, la terapia celular adoptiva. En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética son células inmunitarias. En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética son linfocitos T, tales como linfocitos T CD4+ o CD8+.

En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos, tales como ácidos nucleicos que codifican un receptor recombinante, son heterólogos, es decir, normalmente no están presentes en una célula o muestra obtenida de la célula, tal como una obtenida de otro organismo o célula, que, por ejemplo, normalmente no se encuentra en la célula que se está modificando por ingeniería genética y/o en un organismo del que deriva dicha célula. En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos no son de origen natural, tal como un ácido nucleico que no se encuentra en la naturaleza, incluyendo uno que comprende combinaciones quiméricas de ácidos nucleicos que codifican diversos dominios de múltiples tipos celulares diferentes.

Las células generalmente son células eucariotas, tales como células de mamífero, y normalmente son células humanas. En algunas divulgaciones, las células derivan de la sangre, médula ósea, linfa u órganos linfoides, son células del sistema inmunitario, tales como células de la inmunidad innata o adaptativa, por ejemplo, células mieloides o linfoides, incluyendo linfocitos, normalmente linfocitos T y/o linfocitos NK. Otras células de ejemplo incluyen células madre, tales como células madre multipotentes y pluripotentes, incluyendo células madre pluripotentes inducidas (iPSC, por sus siglas en inglés). Las células normalmente son células primarias, tales como aquellas aisladas directamente de un sujeto y/o aisladas de un sujeto y congeladas. En algunas divulgaciones, las células incluyen uno o más subconjuntos de linfocitos T u otros tipos celulares, tales como poblaciones completas de linfocitos T, células $CD4^+$, células $CD8^+$ y subpoblaciones de las mismas, tales como aquellas definidas por función, estado de activación, madurez, potencial de diferenciación, expansión, recirculación, ubicación y/o capacidades de persistencia, especificidad de antígeno, tipo de receptor de antígeno, presencia en un órgano o compartimento particular, marcador o perfil de secreción de citocinas y/o grado de diferenciación. Con referencia al sujeto que se ha de tratar, las células pueden ser alógenas y/o autólogas. Entre los métodos se incluyen métodos listos para usar. En algunas divulgaciones, tales como para tecnologías listas para usar, las células son pluripotentes y/o multipotentes, tales como células madre, tales como células madre pluripotentes inducidas (iPSC). En algunas divulgaciones, los métodos incluyen aislar células del sujeto, preparar, procesamiento, cultivar y/o modificar por ingeniería genética las mismas, y reintroducirlas en el mismo sujeto, antes o después de la crioconservación.

Entre los subtipos y subpoblaciones de linfocitos T y/o de $CD4^+$ y/o de $CD8^+$ hay linfocitos T sin activación previa (T_N), linfocitos T efectores (T_{EFF}), linfocitos T de memoria y subtipos de los mismos, tales como linfocitos T de memoria de células madre (T_{SCM}), T de memoria central (T_{CM}), T de memoria efectora (T_{EM}) o linfocitos T de memoria efectores diferenciados terminalmente, linfocitos infiltrantes de tumores (TIL), linfocitos T inmaduros, linfocitos T maduros, linfocitos T auxiliares, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T invariantes asociadas a la mucosa (MAIT), linfocitos T reguladores (Treg) de origen natural y adaptativos, linfocitos T auxiliares, tales como linfocitos

TH1, linfocitos TH2, linfocitos TH3, linfocitos TH17, linfocitos TH9, linfocitos TH22, linfocitos T auxiliares foliculares, linfocitos T alfa/beta y linfocitos T delta/gamma.

En algunas divulgaciones, las células son linfocitos citoliticos naturales (NK, por sus siglas en inglés). En algunas divulgaciones, las células son monocitos o granulocitos, por ejemplo, células mieloides, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos y/o basófilos.

En algunas divulgaciones, las células incluyen uno o más ácidos nucleicos introducidos a través de ingeniería genética y, por lo tanto, expresan productos recombinantes o modificados genéticamente de dichos ácidos nucleicos. En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos son heterólogos, es decir, normalmente no están presentes en una célula o muestra obtenida de la célula, tal como una obtenida de otro organismo o célula, que, por ejemplo, normalmente no se encuentra en la célula que se está modificando por ingeniería genética y/o en un organismo del que deriva dicha célula. En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos no son de origen natural, tal como un ácido nucleico que no se encuentra en la naturaleza, incluyendo uno que comprende combinaciones quiméricas de ácidos nucleicos que codifican diversos dominios de múltiples tipos celulares diferentes.

En algunas divulgaciones, la preparación de las células modificadas por ingeniería genética incluye una o más etapas de cultivo y/o preparación. Las células para la introducción del ácido nucleico que codifica el receptor transgénico tal como el CAR, pueden aislarse de una muestra, tal como una muestra biológica, por ejemplo, una obtenida de o derivada de un sujeto. En algunas divulgaciones, el sujeto del que se aísla la célula es uno que tiene la enfermedad o afección o que necesita una terapia celular o al que se le administrará la terapia celular. En algunas divulgaciones, el sujeto es un ser humano que necesita una intervención terapéutica particular, tal como la terapia celular adoptiva para la que las células se aíslan, se procesan y/o se modifican por ingeniería genética.

En consecuencia, las células en algunas divulgaciones son células primarias, por ejemplo, células humanas primarias. Las muestras incluyen tejido, fluido y otras muestras tomadas directamente del sujeto, así como muestras resultantes de una o más etapas de procesamiento, tales como separación, centrifugación, modificación por ingeniería genética (por ejemplo, transducción con vector vírico), lavado y/o incubación. La muestra biológica puede ser una muestra obtenida directamente de una fuente biológica o una muestra que se procesa. Las muestras biológicas incluyen, pero sin limitación, fluidos corporales, tales como sangre, plasma, suero, fluido cefalorraquídeo, fluido sinovial, orina y sudor, muestras de tejidos y órganos, incluyendo muestras procesadas derivadas de los mismos.

En algunas divulgaciones, la muestra de la que derivan o se aíslan las células es sangre o una muestra derivada de sangre, o es o deriva de un producto de aféresis o leucocitaféresis. Los ejemplos de muestras incluyen sangre entera, células mononucleares de sangre periférica (PBMC, leucocitos, médula ósea, timo, biopsia de tejido, tumor, leucemia, linfoma, ganglio linfático, tejido linfoide asociado al intestino, tejido linfoide asociado a la mucosa, bazo, otros tejidos linfoides, hígado, pulmón, estómago, intestino, colon, riñón, páncreas, mama, hueso, próstata, cuello del útero, testículos, ovarios, amígdala u otro órgano, y/o células derivadas de los mismos. Las muestras incluyen, en el contexto de la terapia celular, por ejemplo, terapia celular adoptiva, muestras de fuentes autólogas y alógenas.

En algunas divulgaciones, las células derivan de estirpes celulares, por ejemplo, estirpes de linfocitos T. Las células en algunas divulgaciones se obtienen a partir de una fuente xenógena, por ejemplo, de ratón, rata, primate no humano y cerdo.

En algunas divulgaciones, el aislamiento de las células incluye una o más etapas de separación celular basadas en preparación y/o no afinidad. En algunas divulgaciones, las células se lavan, se centrifugan y/o se incuban en presencia de uno o más reactivos, por ejemplo, para retirar componentes no deseados, enriquecer para los componentes deseados, lisar o retirar células sensibles a reactivos particulares. En algunas divulgaciones, las células se separan basándose en una o más propiedades, tales como la densidad, propiedades adherentes, tamaño, sensibilidad y/o resistencia a componentes particulares.

En algunas divulgaciones, se obtienen células de la sangre circulante de un sujeto, por ejemplo, por aféresis o leucocitaféresis. Las muestras, en algunas divulgaciones, contienen linfocitos, incluyendo linfocitos T, monocitos, granulocitos, linfocitos B, otros glóbulos blancos sanguíneos nucleados, eritrocitos y/o plaquetas, y en algunas divulgaciones contienen células distintas de eritrocitos y plaquetas.

En algunas divulgaciones, las células sanguíneas recogidas del sujeto se lavan, por ejemplo, para retirar la fracción de plasma y colocar las células en un tampón o medio adecuado para las etapas de procesamiento posteriores. En algunas divulgaciones, se lavaron células con solución salina tamponada con fosfato (PBS). En algunas divulgaciones, la solución de lavado carece de calcio y/o magnesio y/o muchos o todos los cationes divalentes. En algunas divulgaciones, se realiza una etapa de lavado en una centrífuga de "flujo continuo" semiautomática (por ejemplo, el procesador celular Cobe 2991, Baxter) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En algunas divulgaciones, se logra una etapa de lavado mediante filtración de flujo tangencial (TFF, por sus siglas en inglés) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En algunas divulgaciones, las células se resuspenden en una diversidad de tampones biocompatibles después del lavado, tal como, por ejemplo, PBS sin Ca^{++}/Mg^{++}. En

determinadas divulgaciones, se retiran los componentes de una muestra de células sanguíneas y las células se resuspenden directamente en medio de cultivo.

En algunas divulgaciones, los métodos incluyen métodos de separación celular basados en la densidad, tales como la preparación de leucocitos a partir de sangre periférica lisando los eritrocitos y centrifugando a través de un gradiente de Percoll o Ficoll.

En algunas divulgaciones, al menos una porción de la etapa de selección incluye la incubación de células con un reactivo de selección. La incubación con un reactivo o reactivos de selección, por ejemplo, como parte de los métodos de selección que pueden realizarse usando uno o más reactivos de selección para la selección de uno o más tipos celulares diferentes basándose en la expresión o presencia en o sobre la célula de una o más moléculas específicas, tales como marcadores de superficie, por ejemplo, proteínas de superficie, marcadores intracelulares o ácido nucleico. En algunas divulgaciones, puede usarse cualquier método conocido que use un reactivo o reactivos de selección para la separación basándose en dichos marcadores. En algunas divulgaciones, el reactivo o reactivos de selección dan como resultado una separación que es una separación basada en afinidad o inmunoafinidad. Por ejemplo, la selección en algunas divulgaciones incluye la incubación con un reactivo o reactivos para la separación de células y poblaciones celulares basándose en la expresión de las células o el nivel de expresión de uno o más marcadores, normalmente marcadores de superficie celular, por ejemplo, mediante incubación con un anticuerpo o compañero de unión que se une específicamente a dichos marcadores, seguida generalmente por etapas de lavado y separación de células que se han unido al anticuerpo o compañero de unión, de aquellas células que no se han unido al anticuerpo o compañero de unión.

En algunas divulgaciones de dichos procesos, se mezcla un volumen de células con una cantidad de un reactivo de selección basado en afinidad deseado. La selección basada en inmunoafinidad puede realizarse usando cualquier sistema o método que dé como resultado una interacción energética favorable entre las células que se separan y la molécula que se une específicamente al marcador en la célula, por ejemplo, el anticuerpo u otro compañero de unión en la superficie sólida, por ejemplo, partícula. En algunas divulgaciones, los métodos se realizan usando partículas tales como perlas, por ejemplo, perlas magnéticas, que están recubiertas con un agente de selección (por ejemplo, un anticuerpo) específico para el marcador de las células. Las partículas (por ejemplo, perlas) pueden incubarse o mezclarse con células en un recipiente, tal como un tubo o bolsa, mientras se agita o se mezcla, con una relación constante de densidad celular a partícula (por ejemplo, perla) para ayudar a promover interacciones energéticamente favorecidas. En otros casos, los métodos incluyen la selección de células en las que toda o una porción de la selección se realiza en la cavidad interna de una cámara centrífuga, por ejemplo, con rotación centrífuga. En algunas divulgaciones, la incubación de células con reactivos de selección, tales como reactivos de selección basados en inmunoafinidad, se realiza en una cámara centrífuga. En determinadas divulgaciones, el aislamiento o separación se realiza usando un sistema, dispositivo o aparato que se describe en la Solicitud de Patente Internacional, Número de publicación WO2009/072003 o US 20110003380 A1. En una divulgación, el sistema es un sistema como se describe en la Publicación Internacional Número WO2016/073602.

En algunas divulgaciones, mediante la realización de dichas etapas de selección o porciones de las mismas (por ejemplo, incubación con partículas recubiertas de anticuerpos, por ejemplo, perlas magnéticas) en la cavidad de una cámara centrífuga, el usuario es capaz de controlar determinados parámetros, tales como el volumen de diversas soluciones, la adición de solución durante el procesamiento y el momento de la misma, lo que puede proporcionar ventajas en comparación con otros métodos disponibles. Por ejemplo, la capacidad de disminuir el volumen de líquido en la cavidad durante la incubación puede aumentar la concentración de las partículas (por ejemplo, reactivo de perlas) utilizadas en la selección y, por lo tanto, el potencial químico de la solución, sin afectar al número total de células en la cavidad. Esto, a su vez, puede potenciar las interacciones por pares entre las células que se procesan y las partículas utilizadas para la selección. En algunas divulgaciones, realizar la etapa de incubación en la cámara, por ejemplo, cuando se asocia a los sistemas, circuitos y control como se describen en el presente documento, permite al usuario efectuar la agitación de la solución en el momento o momentos deseados durante la incubación, lo que también puede mejorar la interacción.

En algunas divulgaciones, al menos una porción de la etapa de selección se realiza en una cámara centrífuga, que incluye la incubación de células con un reactivo de selección. En algunas divulgaciones de dichos procesos, un volumen de células se mezcla con una cantidad de un reactivo de selección basado en afinidad deseado que es mucho menor que el que se emplea normalmente cuando se realizan selecciones similares en un tubo o recipiente para la selección del mismo número de células y/o volumen de células de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En algunas divulgaciones, se emplea una cantidad de reactivo o reactivos de selección que es no más del 5 %, no más del 10 %, no más del 15 %, no más del 20 %, no más del 25 %, no más del 50 %, no más del 60 %, no más del 70 % o no más del 80 % de la cantidad del mismo reactivo o reactivos de selección empleados para la selección de células en una incubación basada en tubos o recipientes para el mismo número de células y/o el mismo volumen de células de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

En algunas divulgaciones, para la selección, por ejemplo, la selección basada en inmunoafinidad de las células, las células se incuban en la cavidad de la cámara en una composición que también contiene el tampón de selección con un reactivo de selección, tal como una molécula que se une específicamente a un marcador de superficie en una

célula que deseaba enriquecer y/o agotar, pero no en otras células de la composición, tal como un anticuerpo, que opcionalmente se acopla a un armazón tal como un polímero o superficie, por ejemplo, perla, por ejemplo, perla magnética, tales como perlas magnéticas acopladas a anticuerpos monoclonales específicos para CD4 y CD8. En algunas divulgaciones, como se describe, el reactivo de selección se añade a las células en la cavidad de la cámara en una cantidad que es sustancialmente inferior (por ejemplo, no es más del 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 % u 80 % de la cantidad) en comparación con la cantidad del reactivo de selección que se usa normalmente o sería necesario para conseguir aproximadamente la misma o similar eficiencia de selección del mismo número de células o el mismo volumen de células cuando la selección se realiza en un tubo con agitación o rotación. En algunas divulgaciones, la incubación se realiza con la adición de un tampón de selección a las células y reactivo de selección para conseguir un volumen objetivo con la incubación del reactivo de, por ejemplo, de 10 ml a 200 ml, tal como al menos o al menos aproximadamente 10 ml, 20 ml, 30 ml, 40 ml, 50 ml, 60 ml, 70 ml, 80 ml, 90 ml, 100 ml, 150 ml o 200 ml. En algunas divulgaciones, el tampón de selección y el reactivo de selección se premezclan antes de la adición a las células. En algunas divulgaciones, el tampón de selección y el reactivo de selección se añaden por separado a las células. En algunas divulgaciones, la incubación de selección se realiza con condiciones de mezcla periódicas suaves, lo que puede ayudar a promover interacciones energéticamente favorecidas y, por lo tanto, permitir el uso de menos reactivo de selección global mientras se consigue una alta eficiencia de selección.

En algunas divulgaciones, la duración total de la incubación con el reactivo de selección es desde o de aproximadamente 5 minutos a 6 horas, tal como de 30 minutos a 3 horas, por ejemplo, al menos o al menos aproximadamente 30 minutos, 60 minutos, 120 minutos o 180 minutos.

En algunas divulgaciones, la incubación se realiza generalmente en condiciones de mezcla, tal como en presencia de centrifugación, generalmente a una fuerza o velocidad relativamente baja, tal como una velocidad inferior a la utilizada para sedimentar las células, tal como desde o de aproximadamente 600 rpm a 1700 rpm (por ejemplo, exactamente o aproximadamente o al menos 600 rpm, 1000 rpm, o 1500 rpm o 1700 rpm), tal como a una RCF en la muestra o pared de la cámara u otro recipiente de desde o de aproximadamente 80 g a 100 g (por ejemplo, exactamente o aproximadamente o al menos 80 g, 85 g, 90 g, 95 g o 100 g). En algunas divulgaciones, la centrifugación se realiza usando intervalos repetidos de una centrifugación a dicha velocidad baja seguidos de un período de descanso, tal como una centrifugación y/o descanso durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 segundos, tal como una centrifugación a aproximadamente 1 o 2 segundos seguida de un descanso durante aproximadamente 5, 6, 7 u 8 segundos.

En algunas divulgaciones, dicho proceso se realiza dentro del sistema completamente cerrado del que forma parte la cámara. En algunas divulgaciones, este proceso (y en algunas divulgaciones también una o más etapas adicionales, tal como una etapa de lavado anterior que lava una muestra que contiene las células, tal como una muestra de aféresis) se realiza de forma automatizada, de manera que las células, el reactivo y otros componentes se introducen y expulsan de la cámara en los momentos adecuados y se efectúa la centrifugación, para completar la etapa de lavado y unión en un único sistema cerrado usando un programa automatizado.

En algunas divulgaciones, después de la incubación y/o mezcla de las células y el reactivo de selección y/o los reactivos, las células incubadas se someten a una separación para seleccionar células basándose en la presencia o ausencia del reactivo o reactivos particulares. En algunas divulgaciones, la separación se realiza en el mismo sistema cerrado en el que se realizó la incubación de las células con el reactivo de selección. En algunas divulgaciones, después de la incubación con los reactivos de selección, las células incubadas, incluyendo las células en las que se ha unido el reactivo de selección, se transfieren a un sistema para la separación basada en inmunoafinidad de las células. En algunas divulgaciones, el sistema para la separación basada en inmunoafinidad es o contiene una columna de separación magnética.

En algunas divulgaciones, los métodos de aislamiento incluyen la separación de diferentes tipos celulares basándose en la expresión o presencia en la célula de una o más moléculas específicas, tales como marcadores de superficie, por ejemplo, proteínas de superficie, marcadores intracelulares o ácido nucleico. En algunas divulgaciones, puede usarse cualquier método conocido para la separación basado en dichos marcadores. En algunas divulgaciones, la separación es una separación basada en afinidad o inmunoafinidad. Por ejemplo, el aislamiento en algunas divulgaciones incluye la separación de células y poblaciones celulares basándose en la expresión de las células o el nivel de expresión de uno o más marcadores, normalmente marcadores de superficie celular, por ejemplo, mediante incubación con un anticuerpo o compañero de unión que se une específicamente a dichos marcadores, seguida generalmente por etapas de lavado y separación de células que se han unido al anticuerpo o compañero de unión, de aquellas células que no se han unido al anticuerpo o compañero de unión.

Dichas etapas de separación pueden basarse en una selección positiva, en la que las células que se han unido a los reactivos quedan retenidas para su uso posterior, y/o selección negativa, en la que quedan retenidas las células que no se han unido al anticuerpo o compañero de unión. En algunas divulgaciones, ambas fracciones quedan retenidas para su uso posterior. En algunas divulgaciones, la selección negativa puede ser particularmente útil cuando no hay ningún anticuerpo disponible que identifique específicamente un tipo celular en una población heterogénea, de manera que la separación se realice mejor basándose en marcadores expresados por células distintas de la población deseada.

La separación no necesita dar como resultado un enriquecimiento o retirada del 100 % de una población celular particular o células que expresan un marcador particular. Por ejemplo, la selección positiva o enriquecimiento de células de un tipo particular, tales como aquellas que expresan un marcador, se refiere a aumentar el número o porcentaje de dichas células, pero no es necesario que dé como resultado una ausencia completa de células que no expresen el marcador. De forma análoga, la selección negativa, retirada o agotamiento de células de un tipo particular, tales como aquellas que expresan un marcador, se refiere a disminuir el número o porcentaje de dichas células, pero no es necesario que dé como resultado una retirada completa de todas estas células.

En algunas divulgaciones, se realizan múltiples rondas de etapas de separación, donde la fracción seleccionada positiva o negativamente de una etapa se somete a otra etapa de separación, tal como una selección positiva o negativa posterior. En algunas divulgaciones, una única etapa de separación puede agotar las células que expresan múltiples marcadores simultáneamente, tal como incubando células con una pluralidad de anticuerpos o compañeros de unión, cada uno específico para un marcador dirigido para selección negativa. De forma análoga, pueden seleccionarse positivamente simultáneamente múltiples tipos de células incubando células con una pluralidad de anticuerpos o compañeros de unión expresados en los diversos tipos celulares.

Por ejemplo, en algunas divulgaciones, subpoblaciones específicas de linfocitos T, tales como células positivas o que expresan niveles altos de uno o más marcadores de superficie, por ejemplo, linfocitos T $CD28^+$, $CD62L^+$, $CCR7^+$, $CD27^+$, $CD127^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$ y/o $CD45RO^+$, se aíslan mediante técnicas de selección positiva o negativa.

Por ejemplo, los linfocitos T $CD3^+$, $CD28^+$ pueden seleccionarse positivamente usando perlas magnéticas conjugadas anti-CD3/anti-CD28 (por ejemplo, Expansor de linfocitos T CD3/CD28 M-450 DYNABEADS®).

En algunas divulgaciones, el aislamiento se realiza por enriquecimiento para una población celular particular mediante selección positiva, o agotamiento de una población celular particular, por selección negativa. En algunas divulgaciones, la selección positiva o negativa se logra incubando células con uno o más anticuerpos u otro agente de unión que se une específicamente a uno o más marcadores de superficie expresados o expresados ($marcador^+$) a un nivel relativamente más alto ($marcador^{alto}$) en las células seleccionadas positiva o negativamente, respectivamente.

En divulgaciones particulares, una muestra biológica, por ejemplo, una muestra de PBMC u otros leucocitos, se someten a selección de linfocitos T CD4+, donde quedan retenidas tanto las fracciones negativas como las positivas. En determinadas divulgaciones, los linfocitos T CD8+ se seleccionan de la fracción negativa. En algunas divulgaciones, una muestra biológica se somete a selección de linfocitos T CD8+, donde quedan retenidas tanto las fracciones negativas como las positivas. En determinadas divulgaciones, los linfocitos T CD4+ se seleccionan de la fracción negativa.

En algunas divulgaciones, los linfocitos T se separan de una muestra de PBMC mediante la selección negativa de marcadores expresados en linfocitos no T, tales como linfocitos B, monocitos u otros leucocitos, tales como CD14. En algunas divulgaciones, se usa una etapa de selección $CD4^+$ o $CD8^+$ para separar linfocitos T auxiliares $CD4^+$ y citotóxicos $CD8^+$. Dichas poblaciones $CD4^+$ y $CD8^+$ pueden clasificarse adicionalmente en subpoblaciones mediante selección positiva o negativa para marcadores expresados o expresados en un grado relativamente mayor en una o más subpoblaciones de linfocitos T sin activación previa, de memoria y/o efectores.

En algunas divulgaciones, las células $CD8^+$ se enriquecen adicionalmente en o se agotan de células madre sin activación previa, de memoria central, de memoria efectora y/o de memoria central, tal como por selección positiva o negativa basada en antígenos de superficie asociados a la subpoblación respectiva. En algunas divulgaciones, el enriquecimiento en linfocitos T de memoria central (T_{CM}) se realiza para aumentar la eficacia, tal como para mejorar la supervivencia a largo plazo, la expansión y/o el injerto después de la administración, que en algunas divulgaciones es particularmente robusto en dichas subpoblaciones. *Véase* Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82; Wang *et al.* (2012) *J Immunother.* 35(9):689-701. En algunas divulgaciones, combinar linfocitos T $CD4^+$ y linfocitos T $CD8^+$ enriquecidos en T_{CM} potencia adicionalmente la eficacia.

En divulgaciones, los linfocitos T de memoria están presentes en subconjuntos $CD62L^+$ y $CD62L^-$ de linfocitos de sangre periférica $CD8^+$. Las PBMC pueden enriquecerse o empobrecerse en fracciones $CD62L^-CD8^+$ y/o $CD62L^+CD8^+$, tal como usando anticuerpos anti-CD8 y anti-CD62L.

En algunas divulgaciones, el enriquecimiento en linfocitos T de memoria central (T_{CM}) se basa en una expresión superficial positiva o alta de CD45RO, CD62L, CCR7, CD28, CD3 y/o CD127; en algunas divulgaciones, se basa en la selección negativa de células que expresan o expresan altamente CD45RA y/o granzima B. En algunas divulgaciones, aislamiento de una población de $CD8^+$ enriquecida en linfocitos T_{CM} se realiza mediante el agotamiento de células que expresan CD4, CD14, CD45RA y selección positiva o enriquecimiento en células que expresan CD62L. En una divulgación, el enriquecimiento en linfocitos T de memoria central (T_{CM}) se realiza comenzando con una fracción negativa de células seleccionadas basándose en la expresión de CD4, que se somete

a una selección negativa basada en la expresión de CD14 y CD45RA, y una selección positiva basada en CD62L. Dichas selecciones en algunas divulgaciones se realizan simultáneamente y en otras divulgaciones se realizan secuencialmente, en cualquier orden. En algunas divulgaciones, la misma etapa de selección basada en la expresión de CD4 utilizada en la preparación de la población o subpoblación de células $CD8^+$, también se usa para generar la población o subpoblación de células $CD4^+$, de manera que tanto las fracciones positivas como las negativas de la separación basada en CD4 quedan retenidas y se usan en etapas posteriores de los métodos, opcionalmente después de una o más etapas de selección positivas o negativas adicionales.

En una divulgación particular, una muestra de PBMC u otra muestra de leucocitos se somete a selección de células CD4+, donde quedan retenidas tanto las fracciones negativas como las positivas. Después, la fracción negativa se somete a una selección negativa basada en la expresión de CD 14 y CD45RA o CD 19, y a una selección positiva basada en un marcador característico de los linfocitos T de memoria central, tal como CD62L o CCR7, donde las selecciones positivas y negativas se realizan en cualquier orden.

Los linfocitos auxiliares T $CD4^+$ se clasifican en células sin activación previa, de memoria central y efectoras identificando poblaciones celulares que tienen antígenos de superficie celular. Pueden obtenerse linfocitos $CD4^+$ mediante métodos convencionales. En algunas divulgaciones, los linfocitos T $CD4^+$ indiferenciados con linfocitos T $CD45RA^+$, $CD62L^+$, $CD4^+$. En algunas divulgaciones, las células $CD4^+$ de memoria central son $CD62L^+$ y $CD45RO^+$. En algunas divulgaciones, las células $CD4^+$ efectoras son $CD62L^-$ y $CD45RO^-$.

En una divulgación, para enriquecer células $CD4^+$ mediante selección negativa, un cóctel de anticuerpos monoclonales normalmente incluye anticuerpos contra CD14, CD20, CD11b, CD16, HLA-DR y CD8. En algunas divulgaciones, el anticuerpo o compañero de unión se une a un soporte sólido o matriz, tal como una perla magnética o una perla paramagnética, para permitir la separación de células para la selección positiva y/o negativa. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, las células y las poblaciones celulares se separan o aíslan usando técnicas de separación inmunomagnéticas (o magnéticas por afinidad) (revisadas en *Methods in Molecular Medicine*, vol. 58: *Metastasis Research Protocols*, vol. 2: *Cell Behavior In Vitro and In Vivo*, págs. 17-25 Editado por: S. A. Brooks y U. Schumacher © Humana Press Inc., Totowa, NJ).

En algunas divulgaciones, la muestra o composición de células que ha de separarse se incuba con material pequeño, magnetizable o magnéticamente sensible, tal como partículas o micropartículas magnéticamente sensibles, tales como perlas paramagnéticas (por ejemplo, tales como perlas Dynalbeads o MACS). El material magnéticamente sensible, por ejemplo, partícula, generalmente está unido directa o indirectamente a un compañero de unión, por ejemplo, un anticuerpo, que se une específicamente a una molécula, por ejemplo, marcador de superficie, presente en la célula, células o población de células que se desea separar, por ejemplo, que se desea seleccionar negativa o positivamente.

En algunas divulgaciones, la partícula o perla magnética comprende un material magnéticamente sensible unido a un miembro de unión específico, tal como un anticuerpo u otro compañero de unión. Existen muchos materiales magnéticamente sensibles bien conocidos utilizados en métodos de separación magnética. Las partículas magnéticas adecuadas incluyen aquellas que se describen en Molday, Patente de los EE.UU. N.º 4.452.773 y en la Memoria descriptiva de la Patente Europea EP 452342 B. Las partículas de tamaño coloidal, tales como aquellas que se describen en OwenPatente de los EE.UU. N.º 4.795.698, y Liberti et al., Patente de los EE.UU. N.º 5.200.084 son otras divulgaciones.

La incubación generalmente se realiza en condiciones en las que los anticuerpos o compañeros de unión, o moléculas, tales como anticuerpos secundarios u otros reactivos, que se unen específicamente a dichos anticuerpos o compañeros de unión, que se unen a la partícula o perla magnética, se unen específicamente a las moléculas de la superficie celular si están presentes en células dentro de la muestra.

En algunas divulgaciones, la muestra se coloca en un campo magnético, y aquellas células que tienen partículas magnéticamente sensibles o magnetizables unidas a las mismas serán atraídas por el imán y se separarán de las células no marcadas. Para la selección positiva, quedan retenidas las células que son atraídas por el imán; para la selección negativa, quedan retenidas las células que no son atraídas (células no marcadas). En algunas divulgaciones, se realiza una combinación de selección positiva y negativa durante la misma etapa de selección, donde las fracciones positivas y negativas quedan retenidas y se procesan adicionalmente o se someten a etapas de separación adicionales.

En determinadas divulgaciones, las partículas magnéticamente sensibles se recubren con anticuerpos primarios u otros compañeros de unión, anticuerpos secundarios, lectinas, enzimas o estreptavidina. En determinadas divulgaciones, las partículas magnéticas se unen a las células a través de un recubrimiento de anticuerpos primarios específicos para uno o más marcadores. En determinadas divulgaciones, las células, en lugar de las perlas, se marcan con un anticuerpo primario o compañero de unión, y después se añaden partículas magnéticas recubiertas con un anticuerpo secundario específico de tipo celular u otro compañero de unión (por ejemplo, estreptavidina). En determinadas divulgaciones, las partículas magnéticas recubiertas con estreptavidina se usan junto con anticuerpos primarios o secundarios biotinilados.

En algunas divulgaciones, las partículas magnéticamente sensibles se dejan unidas a las células que posteriormente se van a incubar, cultivar y/o modificar por ingeniería genética; en algunas divulgaciones, las partículas se dejan unidas a las células para su administración a un paciente. En algunas divulgaciones, las partículas magnetizables o magnéticamente sensibles se retiran de las células. Se conocen métodos para retirar partículas magnetizables de las células e incluyen, por ejemplo, el uso de anticuerpos competitivos no marcados y partículas magnetizables o anticuerpos conjugados con enlazadores escindibles. En algunas divulgaciones, las partículas magnetizables son biodegradables.

En algunas divulgaciones, la selección basada en afinidad es a través de clasificación celular activada magnéticamente (MACS, por sus siglas en inglés) (Miltenyi Biotec, Auburn, CA). Los sistemas de Clasificación celular activada magnéticamente (MACS) son capaces de seleccionar células de alta pureza que tienen partículas magnetizadas unidas a las mismas. En determinadas divulgaciones, MACS funciona en un modo en done las especies no diana y diana se eluyen secuencialmente después de la aplicación del campo magnético externo. Es decir, las células unidas a partículas magnetizadas se mantienen en su lugar mientras se eluyen las especies no unidas. Después, después de que se completa esta primera etapa de elución, las especies que quedaron atrapadas en el campo magnético y se evitó que eluyeran se liberan de alguna manera para que puedan eluir y recuperarse. En determinadas divulgaciones, las células no diana se marcan y se agotan de la población heterogénea de células.

En determinadas divulgaciones, el aislamiento o separación se realiza usando un sistema, dispositivo o aparato que realiza uno o más de las etapas de aislamiento, preparación celular, separación, procesamiento, incubación, cultivo y/o formulación de los métodos. En algunas divulgaciones, el sistema se usa para realizar cada una de estas etapas en un entorno cerrado o estéril, por ejemplo, para minimizar el error, la manipulación y/o la contaminación por parte del usuario. En una divulgación, el sistema es un sistema como se describe en la Solicitud de Patente Internacional, Número de publicación WO2009/072003 o US 20110003380 A1.

En algunas divulgaciones, el sistema o aparato realiza una o más, por ejemplo, todas, las etapas de aislamiento, procesamiento, modificación por ingeniería genética y formulación en un sistema integrado o autónomo, y/o de una manera automatizada o programable. En algunas divulgaciones, el sistema o aparato incluye un ordenador y/o programa informático en comunicación con el sistema o aparato, lo que permite a un usuario programar, controlas, evaluar el resultado de, y/o ajustar diversas divulgaciones de las etapas de procesamiento, aislamiento, modificación por ingeniería genética y formulación.

En algunas divulgaciones, la separación y/u otras etapas se realizan usando el sistema CliniMACS (Miltenyi Biotec), por ejemplo, para la separación automatizada de células a nivel de escala clínica en un sistema cerrado y estéril. Los componentes pueden incluir un microordenador integrado, unidad de separación magnética, bomba peristáltica y diversas válvulas de pinza. El ordenador integrado en algunas divulgaciones controla todos los componentes del instrumento y dirige el sistema para realizar procedimientos repetidos en una secuencia normalizada. La unidad de separación magnética en algunas divulgaciones incluye un imán permanente móvil y un soporte para la columna de selección. La bomba peristáltica controla el caudal en todo el conjunto de tubos y, junto con las válvulas de pinza, garantiza el flujo controlado de tampón a través del sistema y la suspensión continua de células.

El sistema CliniMACS en algunas divulgaciones usa partículas magnetizables acopladas a anticuerpos que se suministran en una solución estéril, apirógena. En algunas divulgaciones, después de marcar las células con partículas magnéticas, las células se lavan para retirar el exceso de partículas. Después, se conecta una bolsa de preparación celular al conjunto de tubos, que a su vez está conectado a una bolsa que contiene tampón y una bolsa de recogida de células. El conjunto de tubos consiste en tubos estériles preensamblados, que incluyen una precolumna y una columna de separación, y son para un solo uso. Después del inicio del programa de separación, el sistema aplica automáticamente la muestra de células en la columna de separación. Las células marcadas quedan retenidas dentro de la columna, mientras que las células no marcadas se retiran mediante una serie de etapas de lavado. En algunas divulgaciones, las poblaciones celulares para su uso con los métodos que se describen en el presente documento están sin marcar y no quedan retenidas en la columna. En algunas divulgaciones, las poblaciones celulares para su uso con los métodos que se describen en el presente documento se marcan y quedan retenidas en la columna. En algunas divulgaciones, las poblaciones de células para su uso con los métodos que se describen en el presente documento eluyen de la columna después de la retirada del campo magnético y se recogen dentro de la bolsa de recogida de células.

En determinadas divulgaciones, la separación y/u otras etapas se realizan usando el sistema CliniMACS Prodigy (Miltenyi Biotec). El sistema CliniMACS Prodigy en algunas divulgaciones está equipado con una unidad de procesamiento celular que permite el lavado y fraccionamiento automatizados de células mediante centrifugación. El sistema CliniMACS Prodigy también puede incluir una cámara a bordo y software de reconocimiento de imágenes que determina el punto final de fraccionamiento celular óptimo al discernir las capas macroscópicas del producto celular de origen. Por ejemplo, la sangre periférica se separa automáticamente en capas de eritrocitos, leucocitos y plasma. El sistema CliniMACS Prodigy también puede incluir una cámara de cultivo celular integrada que realiza protocolos de cultivo celular tales como, por ejemplo, diferenciación y expansión celular, carga de antígeno y cultivo celular a largo plazo. Los puertos de entrada pueden permitir la extracción estéril y la reposición de medio y las

células se pueden controlar usando un microscopio integrado. Véase, por ejemplo, Klebanoff *et al*. (2012) *J Immunother*. 35(9): 651-660, Terakura *et al*. (2012) *Blood*.1:72-82, y Wang *et al*. (2012) *J Immunother*. 35(9):689-701.

En algunas divulgaciones, una población celular que se describe en el presente documento se recoge y se enriquece (o se agota) mediante citometría de flujo, en la que las células teñidas para múltiples marcadores de superficie celular se transportan en una corriente fluídica. En algunas divulgaciones, una población celular que se describe en el presente documento se recoge y se enriquece (o se agota) a través de clasificación por escala preparativa (FACS, por sus siglas en inglés). En determinadas divulgaciones, una población de células que se describe en el presente documento se recoge y se enriquece (o se agota) mediante el uso de chips de sistemas microelectromecánicos (MEMS, por sus siglas en inglés) en combinación con un sistema de detección basado en FACS (véase, por ejemplo, WO 2010/033140, Cho et al. (2010) Lab Chip 10, 1567-1573; y Godin et al. (2008) J Biophoton. 1(5):355-376. En ambos casos, las células se pueden marcar con múltiples marcadores, permitiendo el aislamiento de subconjuntos de linfocitos T bien definidos con alta pureza.

En algunas divulgaciones, los anticuerpos o compañeros de unión se marcan con uno o más marcadores detectables, para facilitar la separación para la selección positiva y/o negativa. Por ejemplo, la separación puede basarse en la unión a anticuerpos marcados con fluorescencia. En algunas divulgaciones, la separación de células basada en la unión de anticuerpos u otros compañeros de unión específicos para uno o más marcadores de superficie celular se transportan en una corriente fluídica, tal como por clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), incluyendo escala preparativa (FACS) y/o chips de sistemas microelectromecánicos (MEMS), por ejemplo, en combinación con un sistema de detección por citometría de flujo. Dichos métodos permiten la selección positiva y negativa basándose en múltiples marcadores simultáneamente.

En algunas divulgaciones, los métodos de preparación incluyen etapas para congelar, por ejemplo, crioconservar, las células, ya sea antes o después del aislamiento, incubación y/o modificación por ingeniería genética. En algunas divulgaciones, la etapa de congelación y posterior descongelación retira los granulocitos y, hasta cierto punto, los monocitos en la población celular. En algunas divulgaciones, las células se suspenden en una solución de congelación, por ejemplo, después de una etapa de lavado para retirar el plasma y las plaquetas. Puede usarse cualquiera de una diversidad de soluciones y parámetros de congelación conocidos en algunas divulgaciones. Una divulgación implica el uso de PBS que contiene DMSO al 20 % y albúmina sérica humano (HSA) al 8 %, u otro medio de congelación celular adecuado. Después, esto se diluye 1:1 con medio para que la concentración final de DMSO y HSA sea del 10 % y del 4 %, respectivamente. En algunas divulgaciones, las composiciones celulares se almacenan en una formulación que contiene aproximadamente el 5 %, 6 %, 7 %, 7,5 %, 8 %, 9 % o 10 % de dimetilsulfóxido, o un intervalo definido por cualquiera de los anteriores, tal como exactamente o aproximadamente el 7,5 % de DMSO. En algunas divulgaciones, las composiciones celulares se almacenan en una formulación que contiene exactamente o aproximadamente el 0,5 %, 1 %, 2 % o 2,5 % (v/v) de albúmina humana al 25 %, o un intervalo definido por cualquiera de los anteriores, tal como aproximadamente 1 % (v/v) de albúmina humana al 25 %. Las células se congelan generalmente a -80 °C a una velocidad de 1 °C por minuto y se almacenan en la fase de vapor de un tanque de almacenamiento de nitrógeno líquido.

En algunas divulgaciones, el aislamiento y/o la selección dan como resultado una o más composiciones de entrada de linfocitos T enriquecidos, por ejemplo, linfocitos T CD3+, linfocitos T CD4+ y/o linfocitos T CD8+. En algunas divulgaciones, dos o más composiciones de entrada separadas se aíslan, seleccionan, enriquecen u obtienen a partir de una única muestra biológica. En algunas divulgaciones, las composiciones de entrada separadas se aíslan, seleccionan, enriquecen y/u obtienen a partir de muestras biológicas separadas recogidas, tomadas y/u obtenidas del mismo sujeto.

En determinadas divulgaciones, la una o más composiciones de entrada son o incluyen una composición de linfocitos T enriquecidos que incluye al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, al menos el 99 %, al menos el 99,5 %, al menos el 99,9 % o exactamente o aproximadamente el 100 % de linfocitos T CD3+. En una divulgación particular, la composición de entrada de los linfocitos T enriquecidos consiste esencialmente en linfocitos T CD3+.

En determinadas divulgaciones, la una o más composiciones de entrada son o incluyen una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos que incluye al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, al menos el 99 %, al menos el 99,5 %, al menos el 99,9 % o exactamente o aproximadamente el 100 % de linfocitos T CD4+. En determinadas divulgaciones, la composición de entrada de linfocitos T CD4+ incluye menos del 40 %, menos del 35 %, menos del 30 %, menos del 25 %, menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 1 %, menos del 0,1 % o menos del 0,01 % de linfocitos T CD8+, y/o no contiene linfocitos T CD8+, y/o está libre o sustancialmente libre de linfocitos T $CD8^+$. En algunas divulgaciones, la composición de los linfocitos T enriquecidos consiste esencialmente en linfocitos T CD4+.

En determinadas divulgaciones, la una o más composiciones son o incluyen una composición de linfocitos T CD8+

que es o incluye al menos el 60 %, al menos el 65 %, al menos el 70 %, al menos el 75 %, al menos el 80 %, al menos el 85 %, al menos el 90 %, al menos el 95 %, al menos el 98 %, al menos el 99 %, al menos el 99,5 %, al menos el 99,9 % o exactamente o aproximadamente el 100 % de linfocitos T CD8+. En determinadas divulgaciones, la composición de los linfocitos T $CD8^+$ contiene menos del 40 %, menos del 35 %, menos del 30 %, menos del 25 %, menos del 20 %, menos del 15 %, menos del 10 %, menos del 5 %, menos del 1 %, menos del 0,1 % o menos del 0,01 % de linfocitos T CD4+, y/o no contiene linfocitos T CD4+, y/o está libre de o sustancialmente libre de linfocitos T CD4+. En algunas divulgaciones, la composición de los linfocitos T enriquecidos consiste esencialmente en linfocitos T $CD8^+$.

2. Activación y estimulación

En algunas divulgaciones, las células se incuban y/o cultivan antes de o en relación con la modificación por ingeniería genética. Las etapas de incubación pueden incluir cultivo, siembra, estimulación, activación y/o propagación. La incubación y/o la modificación por ingeniería genética pueden realizarse en un recipiente de cultivo, tal como una unidad, cámara, pocillo, columna, tubo, conjunto de tubos, válvula, vial, plato de cultivo, bolsa u otro recipiente para el cultivo o siembra de células. En algunas divulgaciones, las composiciones o células se incuban en presencia de condiciones estimuladoras o un agente estimulador. Dichas condiciones incluyen aquellas diseñadas para inducir la proliferación, expansión, activación y/o supervivencia de células en la población, para imitar la exposición al antígeno y/o para cebar las células para la modificación por ingeniería genética, tal como para la introducción de un receptor de antígeno recombinante.

Las condiciones pueden incluir uno o más de medios particulares, temperatura, contenido de oxígeno, contenido de dióxido de carbono, tiempo, agentes, por ejemplo, nutrientes, aminoácidos, antibióticos, iones y/o factores estimuladores, tales como citocinas, quimiocinas, antígenos, compañeros de unión, proteínas de fusión, receptores solubles recombinantes y cualesquier otros agentes diseñados para activar las células.

En algunas divulgaciones, las condiciones o agentes estimuladores incluyen uno o más agentes, por ejemplo, ligando, que es capaz de estimular o activar un dominio de señalización intracelular de un complejo de TCR. En algunas divulgaciones, el agente activa o inicia la cascada de señalización intracelular de TCR/CD3 en un linfocito T. Dichos agentes pueden incluir anticuerpos, tales como aquellos específicos para un TCR, por ejemplo, anti-CD3. En algunas divulgaciones, las condiciones estimuladoras incluyen uno o más agentes, por ejemplo, ligando, que es capaz de estimular un receptor coestimulador, por ejemplo, anti-CD28. En algunas divulgaciones, tales agentes y/o ligandos pueden ser, unido a un soporte sólido tal como una perla, y/o una o más citocinas. Opcionalmente, el método de expansión puede comprender además la etapa de añadir anticuerpo anti-CD3 y/o anti-CD28 al medio de cultivo (por ejemplo, a una concentración de al menos aproximadamente 0,5 ng/ml). En algunas divulgaciones, los agentes estimuladores incluyen IL-2, IL-15 y/o IL-7. En algunas divulgaciones, la concentración de IL-2 es de al menos aproximadamente 10 unidades/ml.

En algunas divulgaciones, la incubación se realiza de acuerdo con técnicas tales como las que se describen en la Patente de los EE.UU. N.º 6.040.177 de Riddell *et al.*, Klebanoff *et al.*(2012) *J Immunother.* 35(9): 651-660, Terakura et al. (2012) Blood.1:72-82, y/o Wang et al. (2012) J Immunother. 35(9):689-701.

En algunas divulgaciones, los linfocitos T se expanden añadiendo a una composición iniciadora de cultivo células alimentadoras, tales como células mononucleares de sangre periférica (PBMC) que no se dividen, (por ejemplo, de manera que la población de células resultante contenga al menos aproximadamente 5, 10, 20 o 40 o más células alimentadoras de PBMC para cada linfocito T en la población inicial que se ha de expandir); e incubando el cultivo (por ejemplo, durante un tiempo suficiente para expandir el número de linfocitos T). En algunas divulgaciones, las células alimentadoras que no se dividen pueden comprender células alimentadoras de PBMC irradiadas con rayos gamma. En algunas divulgaciones, las PBMC se irradian con rayos gamma en el intervalo de aproximadamente 3000 a 3600 rads para evitar la división celular. En algunas divulgaciones, las células alimentadoras se añaden al medio de cultivo antes de la adición de las poblaciones de linfocitos T.

En algunas divulgaciones, las condiciones estimuladoras incluyen una temperatura adecuada para el crecimiento de linfocitos T humanos, por ejemplo, al menos aproximadamente 25 grados Celsius, generalmente al menos aproximadamente 30 grados y generalmente exactamente o aproximadamente 37 grados Celsius. Opcionalmente, la incubación puede comprender además añadir células linfoblastoides transformadas por EBV (LCL) que no se dividen como células alimentadoras. Las LCL puede irradiarse con rayos gamma en el intervalo de aproximadamente 6000 a 10.000 rads. Las células alimentadoras de LCL en algunas divulgaciones se proporcionan en cualquier cantidad adecuada, tal como una relación de células alimentadoras de LCL a linfocitos T iniciales de al menos aproximadamente 10:1.

En divulgaciones, se obtienen linfocitos T específicos de antígeno, tales como linfocitos T $CD4^+$ y/o $CD8^+$ específicos de antígeno, estimulando linfocitos T sin activación previa o específicos de antígeno con antígeno. Por ejemplo, pueden generarse estirpes de linfocitos T específicos de antígeno o clones para antígenos de citomegalovirus aislando linfocitos T de sujetos infectados y estimulando las células *in vitro* con el mismo antígeno.

En algunas divulgaciones, al menos una porción de la incubación en presencia de una o más condiciones estimuladoras o agentes estimuladores se realiza en la cavidad interna de una cámara centrífuga, por ejemplo, con rotación centrífuga, tal como se describe en la Publicación Internacional Número WO2016/073602. En algunas divulgaciones, al menos una porción de la incubación realizada en una cámara centrífuga incluye mezclar con un reactivo o reactivos para inducir la estimulación y/o activación. En algunas divulgaciones, las células, tales como las células seleccionadas, se mezclan con una condición estimuladora o agente estimulador en la cámara centrífuga. En algunas divulgaciones de dichos procesos, un volumen de células se mezcla con una cantidad de una o más condiciones o agentes estimuladores que es mucho menor que la que se emplea normalmente cuando se realizan estimulaciones similares en una placa de cultivo celular u otro sistema.

En algunas divulgaciones, el agente estimulador se añade a las células en la cavidad de la cámara en una cantidad que es sustancialmente inferior (por ejemplo, no es más del 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 % u 80 % de la cantidad) en comparación con la cantidad del agente estimulador que se usa normalmente o sería necesario para conseguir aproximadamente la misma o similar eficiencia de selección del mismo número de células o el mismo volumen de células cuando la selección se realiza sin mezclar en una cámara centrífuga, por ejemplo, en un tubo o bolsa con agitación o rotación periódica. En algunas divulgaciones, la incubación se realiza con la adición de un tampón de incubación a las células y un agente estimulador para conseguir un volumen objetivo con la incubación del reactivo de, por ejemplo, de 10 ml a 200 ml, tal como al menos o al menos aproximadamente o aproximadamente o 10 ml, 20 ml, 30 ml, 40 ml, 50 ml, 60 ml, 70 ml, 80 ml, 90 ml, 100 ml, 150 ml o 200 ml. En algunas divulgaciones, el tampón de incubación y el agente estimulador se mezclan anteriormente antes de la adición a las células. En algunas divulgaciones, el tampón de incubación y el agente estimulador se añaden por separado a las células. En algunas divulgaciones, la incubación estimuladora se realiza con condiciones de mezcla periódicas suaves, lo que puede ayudar a promover interacciones energéticamente favorecidas y, por lo tanto, permitir el uso de menos agente estimulador general mientras se consigue la estimulación y activación de las células.

En algunas divulgaciones, la incubación se realiza generalmente en condiciones de mezcla, tal como en presencia de centrifugación, generalmente a una fuerza o velocidad relativamente baja, tal como una velocidad inferior a la utilizada para sedimentar las células, tal como desde o de aproximadamente 600 rpm a 1700 rpm (por ejemplo, exactamente o aproximadamente o al menos 600 rpm, 1000 rpm, o 1500 rpm o 1700 rpm), tal como a una RCF en la muestra o pared de la cámara u otro recipiente de desde o de aproximadamente 80 g a 100 g (por ejemplo, exactamente o aproximadamente o al menos 80 g, 85 g, 90 g, 95 g o 100 g). En algunas divulgaciones, la centrifugación se realiza usando intervalos repetidos de una centrifugación a dicha velocidad baja seguidos de un período de descanso, tal como una centrifugación y/o descanso durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 segundos, tal como una centrifugación a aproximadamente 1 o 2 segundos seguida de un descanso durante aproximadamente 5, 6, 7 u 8 segundos.

En algunas divulgaciones, la duración total de la incubación, por ejemplo, con el agente estimulador, es de entre o entre aproximadamente 1 hora y 96 horas, 1 hora y 72 horas, 1 hora y 48 horas, 4 horas y 36 horas, 8 horas y 30 horas o 12 horas y 24 horas, tal como al menos o al menos aproximadamente 6 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 36 horas o 72 horas. En algunas divulgaciones, la incubación adicional es durante un tiempo entre o aproximadamente entre 1 hora y 48 horas, 4 horas y 36 horas, 8 horas y 30 horas o 12 horas y 24 horas, inclusive.

En divulgaciones particulares, las condiciones estimuladoras incluyen incubar, cultivar y/o sembrar una composición de linfocitos T enriquecidos con y/o en presencia de una o más citocinas. En divulgaciones particulares, la una o más citocinas son citocinas recombinantes. En algunas divulgaciones, la una o más citocinas son citocinas recombinantes humanas. En determinadas divulgaciones, la una o más citocinas se unen a y/o son capaces de unirse a receptores que se expresan por y/o son endógenos a los linfocitos T. En divulgaciones particulares, la una o más citocinas son o incluyen un miembro de la familia de citocinas de haces de 4-alfa-hélices. En algunas divulgaciones, los miembros de la familia de citocinas de haces de 4-alfa-hélices incluyen, pero sin limitación, interleucina-2 (IL-2), interleucina-4 (IL-4), interleucina-7 (IL-7), interleucina-9 (IL-9), interleucina 12 (IL-12), interleucina 15 (IL-15), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF).

En algunas divulgaciones, la estimulación da como resultado la activación y/o proliferación de las células, por ejemplo, antes de la transducción.

3. Vectores y métodos para la modificación por ingeniería genética

En algunas divulgaciones, las células modificadas por ingeniería genética, tal como linfocitos T, utilizadas en relación con los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones que se divulgan son células que se han modificado genéticamente para expresar un receptor recombinante, por ejemplo, un CAR o un TCR que se describen en el presente documento. En algunas divulgaciones, las células se modifican por ingeniería genética mediante introducción, suministro o transferencia de secuencias de ácido nucleico que codifican el receptor recombinante y/u otras moléculas.

En algunas divulgaciones, los métodos para producir células modificadas por ingeniería genética incluyen la introducción de un polinucleótido que codifica un receptor recombinante (por ejemplo, CAR anti-CD 19) en una célula, por ejemplo, tal como una célula estimulada o activada. En divulgaciones particulares, las proteínas recombinantes son receptores recombinantes, tales como cualesquiera que se describen. La introducción de las moléculas de ácido nucleico que codifican la proteína recombinante, tal como un receptor recombinante, en la célula puede realizarse usando cualquiera de un número de vectores conocidos. Dichos vectores incluyen sistemas víricos y no víricos, incluyendo sistemas lentivíricos y gammaretrovíricos, así como sistemas basados en transposones tales como sistemas de transferencia de genes basados en PiggyBac o Sleeping Beauty. Los métodos de ejemplo incluyen aquellos para la transferencia de ácidos nucleicos que codifican los receptores, incluso vía vírica, por ejemplo, retrovírica o lentivírica, transducción, transposones y electroporación. En algunas divulgaciones, la modificación por ingeniería genética produce una o más composiciones modificadas por ingeniería genética de linfocitos T enriquecidos.

En determinadas divulgaciones, la una o más composiciones de linfocitos T estimulados son o incluyen dos composiciones estimuladas separadas de linfocitos T enriquecidos. En divulgaciones particulares, dos composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos, por ejemplo, dos composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos que se han seleccionado, aislado y/o enriquecido a partir de la misma muestra biológica, se modifican por ingeniería genética por separado. En determinadas divulgaciones, las dos composiciones separadas incluyen una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos. En divulgaciones particulares, las dos composiciones separadas incluyen una composición de linfocitos T CD8+ enriquecidos. En algunas divulgaciones, dos composiciones separadas de linfocitos T CD4+ enriquecidos y linfocitos T CD8+ enriquecidos se modifican genéticamente por separado.

En algunas divulgaciones, la transferencia de genes se logra estimulando primero la célula, tal como mediante combinación con un estímulo que induce una respuesta tal como la proliferación, supervivencia y/o activación, por ejemplo, medida por la expresión de una citocina o marcador de activación, seguido de la transducción de las células activadas y la expansión en cultivo a números suficientes para aplicaciones clínicas. En determinadas divulgaciones, la transferencia génica se logra incubando en primer lugar las células en condiciones estimuladoras, tal como mediante cualquiera de los métodos que se describen.

En algunas divulgaciones, los métodos para la modificación por ingeniería genética se realizan poniendo en contacto una o más células de una composición con una molécula de ácido nucleico que codifica la proteína recombinante, por ejemplo, receptor recombinante. En algunas divulgaciones, el contacto puede efectuarse con centrifugación, tal como espinoculación (por ejemplo, inoculación centrífuga). Dichos métodos incluyen cualquiera de los que se describen en la Publicación Internacional Número WO2016/073602. Las cámaras centrífugas de ejemplo incluyen aquellas producidas y comercializadas por Biosafe SA, incluyendo aquellas para su uso con el sistema Sepax® y Sepax® 2, incluyendo cámaras centrífugas A-200/F y A-200 y diversos kits para su uso con dichos sistemas. Se describen cámaras, sistemas e instrumentación y armarios de procesamiento de ejemplo, por ejemplo, en la Patente de los EE.UU. N.º 6.123.655, la Patente de los EE.UU. N.º 6.733.433 y la Solicitud de Patente de los EE. UU. Publicada, Publicación N.º: US 2008/0171951 y la solicitud de patente internacional publicada, publicación n.º WO 00/38762. Los kits de ejemplo para su uso con dichos sistemas incluyen, pero sin limitación, kits de un solo uso comercializados por BioSafe SA con los nombres de producto CS-430.1, CS-490.1, CS-600.1 o CS-900.2.

En algunas divulgaciones, el contacto puede efectuarse con centrifugación, tal como espinoculación (por ejemplo, inoculación centrífuga). En algunas divulgaciones, la composición que contiene células, el vector, por ejemplo, partículas víricas y reactivo se puede rotar, generalmente a una fuerza o velocidad relativamente baja, tal como una velocidad inferior a la utilizada para sedimentar las células, tal como desde o de aproximadamente 600 rpm a 1700 rpm (por ejemplo, exactamente o aproximadamente o al menos 600 rpm, 1000 rpm, o 1500 rpm o 1700 rpm). En algunas divulgaciones, la rotación se realiza con una fuerza, por ejemplo, una fuerza centrífuga relativa, de desde o de aproximadamente 100 g a 3200 g (por ejemplo, exactamente o aproximadamente o al menos exactamente o aproximadamente 100 g, 200 g, 300 g, 400 g, 500 g, 1000 g, 1500 g, 2000 g, 2500 g, 3000 g o 3200 g), medida, por ejemplo, en una pared interna o externa de la cámara o cavidad. La expresión "fuerza centrífuga relativa" o RCF, por sus siglas en inglés, se entiende generalmente como la fuerza eficaz transmitida sobre un objeto o sustancia (tal como una célula, muestra o sedimento y/o un punto en la cámara u otro recipiente que se está rotando), con respecto a la fuerza gravitacional de la tierra, en un punto particular en el espacio en comparación con el eje de rotación. El valor puede determinarse usando fórmulas bien conocidas, teniendo en cuenta la fuerza gravitacional, la velocidad de rotación y el radio de rotación (distancia desde el eje de rotación y el objeto, sustancia o partícula en que se está midiendo la RCF).

En algunas divulgaciones, el sistema se incluye y/o se coloca en asociación con otra instrumentación, incluyendo instrumentación para operar, automatizar, controlar y/o vigilar divulgaciones de la etapa de transducción y una o más diversas etapas de procesamiento realizadas en el sistema, por ejemplo, una o más etapas de procesamiento que pueden realizarse con o en relación con el sistema de cámara centrífuga como se describe en el presente documento o en la Publicación Internacional Número WO2016/073602. Esta instrumentación en algunas divulgaciones está contenida dentro de un armario. En algunas divulgaciones, la instrumentación incluye un armario, que incluye una carcasa que contiene circuitos de control, una centrífuga, una cubierta, motores, bombas, sensores,

pantallas y una interfaz de usuario. Se describe un dispositivo de ejemplo en la Patente de los EE.UU. N.º 6.123.655, la Patente de los EE.UU. N.º 6.733.433 y el documento US 2008/0171951.

En algunas divulgaciones, el sistema comprende una serie de recipientes, por ejemplo, bolsas, tubos, llaves de paso, abrazaderas, conectores y una cámara de centrífuga. En algunas divulgaciones, los recipientes, tales como bolsas, incluyen uno o más recipientes, tales como bolsas, que contiene las células que se han de transducir y las partículas de vector vírico, en el mismo recipiente o en recipientes separados, tal como la misma bolsa o bolsas separadas. En algunas divulgaciones, el sistema incluye además uno o más recipientes, tales como bolsas, que contienen medio, tal como diluyente y/o solución de lavado, que se introduce en la cámara y/u otros componentes para diluir, resuspender y/o lavar componentes y/o composiciones durante los métodos. Los recipientes se pueden conectar en una o más posiciones en el sistema, tal como en una posición correspondiente a una línea de entrada, línea de diluyente, línea de lavado, línea de residuos y/o línea de salida.

En algunas divulgaciones, la cámara se asocia a una centrífuga, que es capaz de efectuar la rotación de la cámara, tal como alrededor de su eje de rotación. La rotación puede ocurrir antes, durante y/o después de la incubación en relación con la transducción de las células y/o en una o más de las otras etapas de procesamiento. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, una o más de las diversas etapas de procesamiento se realizan con rotación, por ejemplo, a una fuerza particular. La cámara es normalmente capaz de rotación vertical o generalmente vertical, de manera que la cámara se asienta verticalmente durante la centrifugación y la pared lateral y el eje son verticales o generalmente verticales, con la pared o paredes de extremo horizontales o generalmente horizontales.

En algunas divulgaciones, durante al menos una parte de la modificación por ingeniería genética, por ejemplo, transducción, y/o después de la modificación por ingeniería genética, las células se transfieren a un conjunto de bolsas de biorreactor para el cultivo de las células modificadas genéticamente, tal como para el cultivo o la expansión de las células.

En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos recombinantes se transfieren a las células usando partículas de virus infecciosos recombinantes, tal como, por ejemplo, vectores derivados de virus de simio 40 (SV40), adenovirus, virus adenoasociado (AVV). En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos recombinantes se transfieren a los linfocitos T usando vectores lentivíricos o vectores retrovíricos recombinantes, tales como vectores gamma-retrovíricos (véase, por ejemplo, Koste *et al*. (2014) *Gene Therapy* 3 de abril de 2014. doi: 10.1038/gt.2014.25; Carlens *et al*. (2000) *Exp Hematol* 28(10): 1137-46; Alonso-Camino *et al*. (2013) *Mol Ther Nucl Acids 2*, e93; Park *et al*., *Trends Biotechnol*. Noviembre de 2011 29(11): 550-557.

En algunas divulgaciones, el vector retrovírico tiene una secuencia de repetición terminal larga (LTR, por sus siglas en inglés), por ejemplo, un vector retrovírico derivado del virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV), virus del sarcoma mieloproliferativo (MPSV), virus de células madre embrionarias murinas (MESV), virus de células madre murinas (MSCV) o virus formador de focos de bazo (SFFV). La mayoría de los vectores retrovíricos derivan de retrovirus murinos. En algunas divulgaciones, los retrovirus incluyen los derivados de cualquier fuente de células aviares o de mamíferos. Los retrovirus normalmente son anfotrópicos, lo que significa que son capaces de infectar células hospedadoras de varias especies, incluyendo seres humanos. En una divulgación, el gen que se va a expresar sustituye el hueco retrovírico, las secuencias pol y/o env. Se han descrito varios sistemas retrovíricos ilustrativos (por ejemplo, Patente de los EE.UU. N.º 5.219.740; 6.207.453; 5.219.740; Miller y Rosman (1989) *BioTechniques* 7:980-990; Miller, A. D. (1990) Human Gene Therapy 1:5-14; Scarpa et al. (1991) Virology 180:849-852; Burns et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:8033-8037; y Boris-Lawrie y Temin (1993) Cur. *Opin. Genet. Develop*. 3:102-109.

Se conocen métodos de transducción lentivírica. Se describen métodos de ejemplo en, por ejemplo, Wang *et al*. (2012) *J. Immunother*. 35(9): 689-701; Cooper *et al*. (2003) *Blood*. 101:1637-1644; Verhoeyen *et al*. (2009) *Methods Mol Biol*. 506: 97-114; y Cavalieri et al. (2003) Blood. 102(2): 497-505.

En algunas divulgaciones, las partículas de vector vírico contienen un genoma derivado de un vector basado en genoma retrovírico, tal como derivado de un vector basado en genoma lentivírico. En algunas divulgaciones de los vectores víricos divulgados, el ácido nucleico heterólogo que codifica un receptor recombinante, tal como un receptor de antígeno, tal como un CAR, está contenido y/o ubicado entre las secuencias LTR 5' y LTR 3' del genoma del vector.

En algunas divulgaciones, el genoma del vector vírico es un genoma lentivírico, tal como un genoma de VIH-1 o un genoma de SIV. Por ejemplo, se han generado vectores lentivíricos mediante la atenuación múltiple de genes de virulencia, por ejemplo, los genes env, vif, vpu y nef pueden suprimirse, haciendo que el vector sea más seguro para fines terapéuticos. Se conocen vectores lentivíricos. Véase Naldini *et al*., (1996 y 1998); Zufferey *et al*., (1997); Dull *et al*., 1998, las patentes de los EE.UU. n.º 6.013.516; y 5.994.136). En algunas divulgaciones, estos vectores víricos se basan en plásmidos o virus, y se configuran para portar las secuencias esenciales para incorporar ácido nucleico extraño, para la selección y para la transferencia del ácido nucleico a una célula hospedadora. Los lentivirus conocidos pueden obtenerse fácilmente de depósitos o colecciones tales como la Colección Americana de Cultivos Tipo ("ATCC"; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209), o pueden aislarse de fuentes conocidas usando

técnicas disponibles habitualmente.

Los ejemplos no limitantes de vectores lentivíricos incluyen los derivados de un lentivirus, tales como el virus de inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1), HIV-2, un virus de inmunodeficiencia de simios (SIV), virus linfotrópico T humano 1 (HTLV-1), HTLV-2 o virus de la anemia por infección equino (E1AV). Por ejemplo, se han generado vectores lentivíricos atenuando de manera múltiple los genes de virulencia del VIH, por ejemplo, los genes env, vif, vpr, vpu y nef se suprimen, haciendo que el vector sea más seguro para fines terapéuticos. Se conocen en la técnica vectores lentivíricos, véase Naldini *et al.*, (1996 y 1998); Zufferey *et al.*, (1997); Dull *et al.*, 1998, las patentes de los EE.UU. n.º 6.013.516; y 5.994.136). En algunas divulgaciones, estos vectores víricos se basan en plásmidos o virus, y se configuran para portar las secuencias esenciales para incorporar ácido nucleico extraño, para la selección y para la transferencia del ácido nucleico a una célula hospedadora. Los lentivirus conocidos pueden obtenerse fácilmente de depósitos o colecciones tales como la Colección Americana de Cultivos Tipo ("ATCC"; 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209), o pueden aislarse de fuentes conocidas usando técnicas disponibles habitualmente.

En algunas divulgaciones, el vector de genoma vírico puede contener secuencias de las LTR 5' y 3' de un retrovirus, tal como un lentivirus. En algunas divulgaciones, la construcción de genoma vírico puede contener secuencias de las LTR 5' y 3' de un lentivirus y, en particular, puede contener las secuencias R y U5 de la LTR 5' de un lentivirus y una LTR 3' inactivada o autoinactivadora de un lentivirus. Las secuencias de LTR pueden ser secuencias de LTR de cualquier lentivirus de cualquier especie. Por ejemplo, pueden ser secuencias de LTR de VIH, SIV, FIV o BIV. Normalmente, las secuencias de LTR son secuencias de LTR de VIH.

En algunas divulgaciones, el ácido nucleico de un vector vírico, tal como un vector vírico de VIH, carece de unidades transcripcionales adicionales. El genoma del vector puede contener una LTR 3' inactivada o autoinactivadora (Zufferey et al. J Virol 72: 9873, 1998; Miyoshi *et al.*, J Virol 72:8150, 1998). Por ejemplo, puede usarse la deleción en la región U3 de la LTR 3' del ácido nucleico utilizado para producir el ARN de vector vírico para generar vectores autoinactivadores (SIN, por sus siglas en inglés). Después, esta deleción puede transferirse a la LTR 5' del ADN provírico durante la transcripción inversa. Un vector autoinactivador generalmente tiene una deleción de las secuencias potenciadoras y promotoras de la repetición terminal larga (LTR, por sus siglas en inglés) 3', que se copia en la LTR 5' durante la integración vectorial. En algunas divulgaciones, se puede eliminar suficiente secuencia, incluyendo la retirada de una caja TATA, para suprimir la actividad transcripcional de la LTR. Esto puede evitar la producción de ARN de vector de longitud completa en células transducidas. En algunas divulgaciones, el elemento U3 de la LTR 3' contiene una deleción de su secuencia potenciadora, la caja TATA, Sp1 y sitios NF-kappa B. Como resultado de la LTR 3' autoinactivadora, el provirus que se genera después de la entrada y la transcripción inversa contiene una LTR 5' inactivada. Esto puede mejorar la seguridad al reducir el riesgo de movilización del genoma del vector y la influencia de la LTR en los promotores celulares cercanos. La LTR 3' autoinactivadora puede construirse mediante cualquier método conocido en la técnica. En algunas divulgaciones, esto no afecta a los títulos de vector o a las propiedades *in vitro* o *in vivo* del vector.

Opcionalmente, la secuencia U3 de la LTR 5' lentivírica puede reemplazarse con una secuencia promotora en la construcción vírica, tal como una secuencia promotora heteróloga. Esto puede aumentar el título de virus recuperado de la estirpe celular de empaquetamiento. También puede incluirse una secuencia potenciadora. Puede usarse cualquier combinación de potenciador/promotor que aumente la expresión del genoma de ARN vírico en la estirpe celular de empaquetamiento. En una divulgación, se usa la secuencia potenciadora/promotora de CMV (Patente de los EE.UU. N.º 5.385.839 y Patente de los EE.UU. N.º 5.168.062).

En determinadas divulgaciones, el riesgo de mutagénesis por inserción puede minimizarse construyendo el genoma del vector retrovírico, tal como el genoma del vector lentivírico, para que sea de integración defectuosa. Se puede buscar una diversidad de enfoques para producir un genoma de vector de no integración. En algunas divulgaciones, una o más mutaciones pueden modificarse por ingeniería genética en el componente de enzima integrasa del gen pol, de manera que codifique una proteína con una integrasa inactiva. En algunas divulgaciones, el propio genoma del vector puede modificarse para evitar la integración, por ejemplo, mutando o suprimiendo uno o ambos sitios de unión, o haciendo que el tracto de polipurina proximal (PPT) a LTR 3' no sea funcional a través de deleción o modificación. En algunas divulgaciones, hay disponibles enfoques no genéticos; estos incluyen agentes farmacológicos que inhiben una o más funciones de la integrasa. Los enfoques no son mutuamente excluyentes; es decir, puede usarse más de uno de ellos a la vez. Por ejemplo, tanto la integrasa como los sitios de unión pueden ser no funcionales, o la integrasa y el sitio de PPT pueden ser no funcionales, o los sitios de unión y el sitio de PPT pueden ser no funcionales, o todos ellos pueden ser no funcionales. Dichos métodos y genomas de vectores víricos se conocen y están disponibles (véase Philpott y Thrasher, Human Gene Therapy 18:483, 2007; Engelman et al. J Virol 69:2729, 1995; Brown et al J Virol 73:9011 (1999); WO 2009/076524; McWilliams *et al.*, J Virol 77:11150, 2003; Powell y Levin J Virol 70:5288, 1996).

En algunas divulgaciones, el vector contiene secuencias para la propagación en una célula hospedadora, tal como una célula hospedadora procariota. En algunas divulgaciones, el ácido nucleico del vector vírico contiene uno o más orígenes de replicación para la propagación en una célula procariota, tal como una célula bacteriana. En algunas divulgaciones, los vectores que incluyen un origen de replicación procariota también pueden contener un gen cuya

expresión confiere un marcador detectable o seleccionable tal como resistencia a fármacos.

El genoma del vector vírico se construye normalmente en una forma de plásmido que puede transfectarse en una estirpe celular de empaquetamiento o productora. Puede usarse cualquiera de una diversidad de métodos conocidos para producir partículas retrovíricas cuyo genoma contiene una copia de ARN del genoma del vector vírico. En algunas divulgaciones, al menos dos componentes están implicados en la fabricación de un sistema de suministro de genes basado en virus: en primer lugar, plásmidos de empaquetamiento, que abarca las proteínas estructurales, así como las enzimas necesarias para generar una partícula de vector vírico, y en segundo lugar, el propio vector vírico, es decir, el material genético que ha de transferirse. Pueden introducirse salvaguardas de bioseguridad en el diseño de uno o ambos de estos componentes.

En algunas divulgaciones, el plásmido empaquetador puede contener todos los retrovirales, tales como HIV-1, proteínas distintas de las proteínas de la envoltura (Naldini et al., 1998). En otras divulgaciones, los vectores víricos pueden carecer de genes víricos adicionales, tales como los que se asocian a la virulencia, por ejemplo, vpr, vif, vpu y nef, y/o Tat, un transactivador primario del VIH. En algunas divulgaciones, los vectores lentivíricos, tales como los vectores lentivíricos a base de VIH, comprenden solo tres genes del virus parental: gag, pol y rev, lo que reduce o elimina la posibilidad de reconstitución de un virus de tipo silvestre a través de recombinación.

En algunas divulgaciones, el genoma del vector vírico se introduce en una estirpe celular de empaquetamiento que contiene todos los componentes necesarios para empaquetar el ARN genómico vírico, transcrito a partir del genoma del vector vírico, en partículas víricas. Como alternativa, el genoma del vector vírico puede comprender uno o más genes que codifican componentes víricos además de la una o más secuencias, por ejemplo, ácidos nucleicos recombinantes, de interés. En algunas divulgaciones, con el fin de evitar la replicación del genoma en la célula diana, sin embargo, los genes víricos endógenos necesarios para la replicación se retiran y se proporcionan por separado en la estirpe celular de empaquetamiento.

En algunas divulgaciones, una estirpe celular de empaquetamiento se transfecta con uno o más vectores plasmídicos que contienen los componentes necesarios para generar las partículas. En algunas divulgaciones, una estirpe celular de empaquetamiento se transfecta con un plásmido que contiene el genoma del vector vírico, incluyendo las LTR, la secuencia de empaquetamiento que actúa en cis y la secuencia de interés, es decir, un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno, tal como un CAR; y uno o más plásmidos auxiliares que codifican los componentes enzimáticos y/o estructurales del virus, tales como Gag, pol y/o rev. En algunas divulgaciones, se utilizan múltiples vectores para separar los diversos componentes genéticos que generan las partículas de vector retrovírico. En algunas de dichas divulgaciones, proporcionar vectores separados a la célula de empaquetamiento reduce la posibilidad de acontecimientos de recombinación que de otro modo podrían generar virus competentes para la replicación. En algunas divulgaciones, puede usarse un único vector plasmídico que tenga todos los componentes retrovíricos.

En algunas divulgaciones, la partícula de vector retrovírico, tal como la partícula de vector lentivírico, se pseudotipa para aumentar la eficiencia de transducción de las células hospedadoras. Por ejemplo, una partícula de vector retrovírico, tal como una partícula de vector lentivírico, en algunas divulgaciones se pseudotipa con una glicoproteína de VSV-G, lo que proporciona una amplia gama de hospedadores celulares que amplía los tipos celulares que pueden transducirse. En algunas divulgaciones, una estirpe celular de empaquetamiento se transfecta con un plásmido o polinucleótido que codifica una glicoproteína de envuelta no nativa, tal como para incluir envueltas xenotrópicas, politrópicas o anfotrópicas, tales como la envuelta del virus Sindbis, GALV o VSV-G.

En algunas divulgaciones, la estirpe celular de empaquetamiento proporciona los componentes, incluyendo proteínas reguladoras y estructurales víricas, que se requieren en trans para el empaquetamiento del ARN genómico vírico en partículas de vector lentivírico. En algunas divulgaciones, la estirpe celular de empaquetamiento puede ser cualquier estirpe celular que sea capaz de expresar proteínas lentivíricas y producir partículas de vector lentivírico funcionales. En algunas divulgaciones, las estirpes celulares de empaquetamiento adecuadas incluyen células 293 (ATCC CCL X), 293T, HeLA (ATCC CCL 2), D17 (ATCC CCL 183), MDCK (ATCC CCL 34), BHK (ATCC CCL-10) y Cf2Th (ATCC CRL 1430).

En algunas divulgaciones, la estirpe celular de empaquetamiento expresa de manera estable la proteína o proteínas víricas. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, puede construirse una estirpe celular de empaquetamiento que contiene el gag, pol, rev y/u otros genes estructurales, pero sin la LTR y componentes de empaquetamiento. En algunas divulgaciones, una estirpe celular de empaquetamiento puede transfectarse transitoriamente con moléculas de ácido nucleico que codifican una o más proteínas víricas junto con el genoma del vector vírico que contiene una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína heteróloga y/o un ácido nucleico que codifica una glicoproteína de envuelta.

En algunas divulgaciones, los vectores víricos y los plásmidos de empaquetamiento y/o auxiliares se introducen a través de transfección o infección en la estirpe celular de empaquetamiento. La estirpe celular de empaquetamiento produce partículas de vector vírico que contienen el genoma de vector vírico. Se conocen bien métodos de transfección o infección. Los ejemplos no limitantes incluyen fosfato de calcio, DEAE-dextrano y métodos de

lipofección, electroporación y microinyección.

Cuando un plásmido recombinante y la LTR retrovírica y las secuencias de empaquetamiento se introducen en una estirpe celular especial (por ejemplo, mediante precipitación de fosfato de calcio, por ejemplo), las secuencias de empaquetamiento pueden permitir que el transcrito de ARN del plásmido recombinante se empaquete en partículas víricas, que después pueden secretarse en el medio de cultivo. Después, el medio que contiene los retrovirus recombinantes en algunas divulgaciones en el presente documento se recoge, opcionalmente se concentra y se usa para la transferencia de genes. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, después de la cotransfección de los plásmidos de empaquetamiento y el vector de transferencia a la estirpe celular de empaquetamiento, las partículas de vector vírico se recuperan del medio de cultivo y se valoran mediante métodos convencionales utilizados por los expertos en la materia.

En algunas divulgaciones, puede producirse un vector retrovírico, tal como un vector lentivírico, en una estirpe celular de empaquetamiento, tal como una estirpe celular HEK 293T de ejemplo, mediante la introducción de plásmidos para permitir la generación de partículas lentivíricas. En algunas divulgaciones, una célula de empaquetamiento se transfecta y/o contiene un polinucleótido que codifica gag y pol, y un polinucleótido que codifica un receptor recombinante, tal como un receptor de antígeno, por ejemplo, un CAR. En algunas divulgaciones, la estirpe celular de empaquetamiento se transfecta opcional y/o adicionalmente con y/o contiene un polinucleótido que codifica una proteína rev. En algunas divulgaciones, la estirpe celular de empaquetamiento se transfecta opcional y/o adicionalmente con y/o contiene un polinucleótido que codifica una glicoproteína de envuelta no nativa, tal como VSV-G. En algunas de dichas divulgaciones, aproximadamente dos días después de la transfección de las células, *por ejemplo,* células HEK 293T, el sobrenadante celular contiene vectores lentivíricos recombinantes, que pueden recuperare y valorarse.

Las partículas de vector retrovírico recuperadas y/o producidas pueden usarse para transducir células diana usando los métodos como se describen. Una vez en las células diana, el ARN vírico se transcribe inversamente, se importa en el núcleo y se integra de manera estable en el genoma del hospedador. Uno o dos días después de la integración del ARN vírico, la expresión de la proteína recombinante, por ejemplo, receptor de antígeno, tal como CAR, puede detectarse.

En algunas divulgaciones, los métodos que se divulgan implican métodos de transducción de células poniendo en contacto, por ejemplo, incubando, una composición celular que comprende una pluralidad de células con una partícula vírica. En algunas divulgaciones, las células que se han de transfectar o transducir son o comprenden células primarias obtenidas de un sujeto, tales como células enriquecidas y/o seleccionadas de un sujeto.

En algunas divulgaciones, la concentración de células que se han de transducir de la composición es de desde o desde aproximadamente 1,0 × 10^5 células/ml hasta 1,0 x 10^8 células/ml, tal como al menos o al menos aproximadamente o aproximadamente 1,0 × 10^5 células/ml, 5 × 10^5 células/ml, 1 × 10^6 células/ml, 5 x 10^6 células/ml, 1 × 10^7 células/ml, 5 x 10^7 células/ml o 1 × 10^8 células/ml.

En algunas divulgaciones, las partículas víricas se proporcionan en una determinada relación de copias de las partículas de vector vírico o unidades infecciosas (UI) de las mismas, por número total de células que se han de transducir (UI/célula). Por ejemplo, en algunas divulgaciones, las partículas víricas están presentes durante el contacto a exactamente o aproximadamente o al menos exactamente o aproximadamente 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 o 60 UI de las partículas de vector vírico por una de las células.

En algunas divulgaciones, el título de partículas de vector vírico está entre o entre aproximadamente 1 × 10^6 UI/ml y 1 × 10^8 UI/ml, tal como entre o entre aproximadamente 5 x 10^6 UI/ml y 5 x 10^7 UI/ml, tal como al menos 6 × 10^6 UI/ml, 7 × 10^6 UI/ml, 8 × 10^6 UI/ml, 9 x 10^6 UI/ml, 1 × 10^7 UI/ml, 2 x 10^7 UI/ml, 3 x 10^7 UI/ml, 4 x 10^7 UI/ml o 5 x 10^7 UI/ml.

En algunas divulgaciones, la transducción puede conseguirse a una multiplicidad de infección (MOI, por sus siglas en inglés) de menos de 100, tal como generalmente menos de 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 o menos.

En algunas divulgaciones, el método implica poner en contacto o incubar, las células con las partículas víricas. En algunas divulgaciones, el contacto es durante 30 minutos a 72 horas, tal como de 30 minutos a 48 horas, de 30 minutos a 24 horas o de 1 hora a 24 horas, tal como al menos o al menos aproximadamente 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas o más.

En algunas divulgaciones, el contacto se realiza en solución. En algunas divulgaciones, las células y las partículas víricas se ponen en contacto en un volumen de desde o de aproximadamente 0,5 ml a 500 ml, tal como desde o de aproximadamente 0,5 ml a 200 ml, de 0,5 ml a 100 ml, de 0,5 ml a 50 ml, de 0,5 ml a 10 ml, de 0,5 ml a 5 ml, de 5 ml a 500 ml, de 5 ml a 200 ml, de 5 ml a 100 ml, de 5 ml a 50 ml, de 5 ml a 10 ml, de 10 ml a 500 ml, de 10 ml a 200 ml, de 10 ml a 100 ml, de 10 ml a 50 ml, de 50 ml a 500 ml, de 50 ml a 200 ml, de 50 ml a 100 ml, de 100 ml a 500 ml, de 100 ml a 200 ml o d 200 ml a 500 ml.

En determinadas divulgaciones, las células de entrada se tratan, se incuban o se ponen en contacto con partículas que comprenden moléculas de unión que se unen o reconocen el receptor recombinante que es codificado por el ADN vírico.

En algunas divulgaciones, la incubación de las células con las partículas de vector vírico da como resultado o produce una composición de salida que comprende células transducidas con las partículas de vector vírico.

En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos recombinantes se transfieren a los linfocitos T a través de electroporación (véase, por ejemplo, Chicaybam *et al*, (2013) *PLoS ONE* 8(3): e60298 y Van Tedeloo *et al*. (2000) *Gene Therapy* 7(16): 1431-1437). En algunas divulgaciones, los ácidos nucleicos recombinantes se transfieren a los linfocitos T a través de transposición (véase, por ejemplo, Manuri *et al*. (2010) *Hum Gene Ther* 21(4): 427-437; Sharma *et al.* (2013) *Molec Ther Nucl Acids 2*, e74; y Huang *et al*. (2009) *Methods Mol Biol* 506: 115-126). Otros métodos de introducción y expresión de material genético en células inmunitarias incluyen la transfección con fosfato de calcio (por ejemplo, como se describe en *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Nueva York. N.Y.), fusión de protoplastos, transfección mediada por liposomas catiónicos; bombardeo de micropartículas facilitado por partículas de wolframio (Johnston, *Nature*, 346: 776-777 (1990)); y coprecipitación de ADN con fosfato de estroncio (Brash *et al., Mol. Cell Biol*., 7: 2031-2034 (1987)).

Otros enfoques y vectores para la transferencia de los ácidos nucleicos que codifican los productos recombinantes son aquellos que se describen, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional, Publicación N.º: WO2014055668 y la Patente de los EE.UU. N.º 7.446.190.

En algunas divulgaciones, las células, por ejemplo, linfocitos T, pueden transfectarse durante o después de la expansión, por ejemplo, con un receptor de linfocitos T (TCR) o un receptor de antígeno quimérico (CAR). Esta transfección para la introducción del gen del receptor deseado puede realizarse con cualquier vector retrovírico adecuado, por ejemplo. La población de células modificadas genéticamente después puede liberarse a partir del estímulo inicial (el estímulo anti-CD3/anti-CD28, por ejemplo) y posteriormente puede estimularse con un segundo tipo de estímulo, por ejemplo, a través de un receptor introducido *de novo*). Este segundo tipo de estímulo puede incluir un estímulo antigénico en forma de una molécula de péptido/MHC, el ligando afín (entrecruzamiento) del receptor introducido genéticamente (por ejemplo, ligando natural de un CAR) o cualquier ligando (tal como un anticuerpo) que se une directamente dentro del armazón del nuevo receptor (por ejemplo, reconociendo regiones constantes dentro del receptor). Véase, por ejemplo, Cheadle *et al*, "*Chimeric antigen receptors for T-cell based therapy*" *Methods Mol Biol*. 2012; 907:645-66 o Barrett *et al*., *Chimeric Antigen Receptor Therapy for Cancer Annual Review of Medicine* Vol. 65: 333-347 (2014).

En algunos casos, puede usarse un vector que no requiera que las células, por ejemplo, linfocitos T, estén activadas. En algunos de dichos casos que se divulgan en el presente documento, las células pueden seleccionarse y/o transducirse antes de la activación. Por lo tanto, las células pueden modificarse por ingeniería genética antes o después del cultivo de las células y, en algunos casos al mismo tiempo que o durante al menos una porción del cultivo.

Entre los ácidos nucleicos adicionales, por ejemplo, los genes para la introducción son aquellos para mejorar la eficacia de la terapia, tal como promoviendo la viabilidad y/o función de las células transferidas; los genes para proporcionar un marcador genético para la selección y/o evaluación de las células, tal como para evaluar la ubicación y supervivencia *in vivo*; los genes para mejorar la seguridad, por ejemplo, haciendo que la célula sea susceptible a la selección negativa *in vivo* como se describe en Lupton S. D. *et al*., *Mol. and Cell Biol*., 11:6 (1991); yRiddell *et al*., Human Gene Therapy 3:319-338 (1992); véanse también las publicaciones de PCT/US91/08442 y PCT/US94/05601 de Lupton *et al*. que describen el uso de genes de fusión seleccionables bifuncionales derivados de la fusión de un marcador seleccionable positivo dominante con un marcador seleccionable negativo. *Véase,* por ejemplo, Riddell et al., Patente de los EE.UU. N.º 6.040.177, en las columnas 14-17.

4. Cultivo, expansión y formulación de células modificadas por ingeniería genética

En algunas divulgaciones, los métodos para generar las células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, para la terapia celular de acuerdo con cualquiera de los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, incluyen una o más etapas para cultivar células, por ejemplo, cultivar células en condiciones que promueven la proliferación y/o expansión. En algunas divulgaciones, las células se cultivan en condiciones que promueven la proliferación y/o expansión posterior a una etapa de modificación genética, por ejemplo, introducir un polipéptido recombinante en las células mediante transducción o transfección. En divulgaciones particulares, las células se cultivan después de que las células se hayan incubado en condiciones estimuladoras y se hayan transducido o transfectado con un polinucleótido recombinante, por ejemplo, un polinucleótido que codifica un receptor recombinante. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, una composición de linfocitos T positivos para CAR que se ha modificado por ingeniería genética mediante transducción o transfección con un polinucleótido recombinante que codifica el CAR, se cultiva en condiciones que promueven la proliferación y/o expansión.

En determinadas divulgaciones, la una o más composiciones de linfocitos T modificados por ingeniería genética son

o incluyen dos composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos, tales como dos composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos que se han modificado por ingeniería genética con un polinucleótido que codifica un receptor recombinante, por ejemplo, un CAR. En divulgaciones particulares, dos composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos, por ejemplo, dos composiciones separadas de linfocitos T enriquecidos, seleccionados, aislados y/o enriquecidos a partir de la misma muestra biológica, se cultivan por separado en condiciones estimulantes, tal como posteriormente a una etapa de modificación genética, por ejemplo, introducir un polipéptido recombinante en las células mediante transducción o transfección. En determinadas divulgaciones, las dos composiciones separadas incluyen una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos, tal como una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos que se han modificado por ingeniería genética con un polinucleótido que codifica un receptor recombinante, por ejemplo, un CAR. En divulgaciones particulares, las dos composiciones separadas incluyen una composición de linfocitos T CD8+ enriquecidos, tal como una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos que se han modificado por ingeniería genética con un polinucleótido que codifica un receptor recombinante, por ejemplo, un CAR. En algunas divulgaciones, dos composiciones separadas de linfocitos T CD4+ enriquecidos y linfocitos T CD8+ enriquecidos, tal como una composición de linfocitos T CD4+ enriquecidos y una composición de linfocitos T CD8+ enriquecidos que se han modificado por ingeniería genética cada una por separado con un polinucleótido que codifica un receptor recombinante, por ejemplo, un CAR, se cultivan por separado, por ejemplo, en condiciones que promueven la proliferación y/o expansión.

En algunas divulgaciones, el cultivo se realiza en condiciones que promueven la proliferación y/o expansión. En algunas divulgaciones, dichas condiciones pueden diseñarse para inducir la proliferación, expansión, activación y/o supervivencia de células en la población. En divulgaciones particulares, las condiciones estimuladoras pueden incluir uno o más de medios particulares, temperatura, contenido de oxígeno, contenido de dióxido de carbono, tiempo, agentes, por ejemplo, nutrientes, aminoácidos, antibióticos, iones y/o factores estimuladores, tales como citocinas, quimiocinas, antígenos, compañeros de unión, proteínas de fusión, receptores solubles recombinantes y cualquier otro agente diseñado para promover el crecimiento, la división y/o la expansión de las células.

En divulgaciones particulares, las células se cultivan en presencia de una o más citocinas. En divulgaciones particulares, la una o más citocinas son citocinas recombinantes. En algunas divulgaciones, la una o más citocinas son citocinas recombinantes humanas. En determinadas divulgaciones, la una o más citocinas se unen a y/o son capaces de unirse a receptores que se expresan por y/o son endógenos a los linfocitos T. En divulgaciones particulares, la una o más citocinas, por ejemplo, una citocina recombinante, es o incluye un miembro de la familia de citocinas de haces de 4 hélices alfa. En algunas divulgaciones, los miembros de la familia de citocinas de haces de 4-alfa-hélices incluyen, pero sin limitación, interleucina-2 (IL-2), interleucina-4 (IL-4), interleucina-7 (IL-7), interleucina-9 (IL-9), interleucina 12 (IL-12), interleucina 15 (IL-15), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF). En algunas divulgaciones, la una o más citocinas recombinantes incluyen IL-2, IL-7 y/o IL-15. En algunas divulgaciones, las células, por ejemplo, las células modificadas por ingeniería genética, se cultivan en presencia de una citocina, por ejemplo, una citocina humana recombinante, a una concentración de entre 1 UI/ml y 2.000 UI/ml, entre 10 UI/ml y 100 UI/ml, entre 50 UI/ml y 200 UI/ml, entre 100 UI/ml y 500 UI/ml, entre 100 UI/ml y 1.000 UI/ml, entre 500 UI/ml y 2.000 UI/ml o entre 100 UI/ml y 1.500 UI/ml.

En algunas divulgaciones, el cultivo se realiza en condiciones que generalmente incluyen una temperatura adecuada para el crecimiento de células inmunitarias primarias, tales como linfocitos T humanos, por ejemplo, al menos aproximadamente 25 grados Celsius, generalmente al menos aproximadamente 30 grados y generalmente exactamente o aproximadamente 37 grados Celsius. En algunas divulgaciones, la composición de linfocitos T enriquecidos se incuba a una temperatura de 25 a 38 °C, tal como de 30 a 37 °C, por ejemplo, exactamente o aproximadamente 37 °C ± 2 °C. En algunas divulgaciones, la incubación se realiza durante un período de tiempo hasta que el cultivo, por ejemplo, siembra o expansión, da como resultado una densidad, un número o una dosis de células deseada o umbral. En algunas divulgaciones, la incubación es superior a o superior a aproximadamente o es durante aproximadamente o 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días o más.

En divulgaciones particulares, la siembra se realiza en un sistema cerrado. En determinadas divulgaciones, la siembra se realiza en un sistema cerrado en condiciones estériles. En divulgaciones particulares, la siembra se realiza en el mismo sistema cerrado que una o más etapas de los sistemas que se divulgan. En algunas divulgaciones, la composición de linfocitos T enriquecidos se retira de un sistema cerrado y se coloca en y/o se conecta a un biorreactor para el cultivo. Los ejemplos de biorreactores adecuados para la siembra incluyen, pero sin limitación, GE Xuri W25, GE Xuri W5, Sartorius BioSTAT RM 20 | 50, Finesse SmartRocker Bioreactor Systems y Pall XRS Bioreactor Systems. En algunas divulgaciones, el biorreactor se usa para perfundir y/o mezclar las células durante al menos una porción de la etapa de siembra.

En algunas divulgaciones, la mezcla es o incluye balanceo y/o movimiento. En algunos casos, el biorreactor puede estar sujeto a movimiento o balanceo, que, en algunas divulgaciones, puede aumentar la transferencia de oxígeno. El movimiento del biorreactor puede incluir, pero sin limitación, rotar a lo largo de un eje horizontal, rotar a lo largo de un eje vertical, un movimiento de balanceo a lo largo de un eje horizontal ladeado o inclinado del biorreactor o cualquier combinación de los mismos. En algunas divulgaciones, al menos una porción de la incubación se realiza con balanceo. La velocidad de balanceo y el ángulo de balanceo pueden ajustarse para conseguir la agitación

deseada. En algunas divulgaciones el ángulo de balanceo es 20°, 19°, 18°, 17°, 16°, 15°, 14°, 13°, 12°, 11°, 10°, 9°, 8°, 7°, 6°, 5°, 4°, 3°, 2° o 1°. En determinadas divulgaciones, el ángulo de balanceo está entre 6-16°. En otras divulgaciones, el ángulo de balanceo está entre 7-16°. En otras divulgaciones, el ángulo de balanceo está entre 8-12°. En algunas divulgaciones, la tasa de balanceo es de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 rpm. En algunas divulgaciones, la velocidad de balanceo está entre 4 y 12 rpm, tal como entre 4 y 6 rpm, inclusive.

En algunas divulgaciones, el biorreactor mantiene la temperatura a exactamente o cerca de 37 °C y los niveles de CO2 a exactamente o cerca del 5 % con un flujo de aire constante a, a aproximadamente, o al menos 0,01 l/min, 0,05 l/min, 0,1 l/min, 0,2 l/min, 0,3 l/min, 0,4 l/min, 0,5 l/min, 1,0 l/min, 1,5 l/min o 2,0 l/min o superior a 2,0 l/min. En determinadas divulgaciones, al menos una porción de la siembra se realiza con perfusión, tal como con una tasa de 290 ml/día, 580 ml/día y/o 1160 ml/día, por ejemplo, dependiendo del momento con respecto al inicio de la siembra y/o la densidad de las células cultivadas. En algunas divulgaciones, al menos una porción de la expansión del cultivo celular se realiza con un movimiento de balanceo, tal como en un ángulo de entre 5° y 10°, tal como 6°, a una velocidad de balanceo constante, tal como a una velocidad de entre 5 y 15 RPM, tal como 6 RMP o 10 RPM.

En algunas divulgaciones, los métodos de fabricación, generación o producción de una terapia celular y/o células modificadas por ingeniería genética, de acuerdo con los métodos, usos y artículos de fabricación que se divulgan, pueden incluir la formulación de células, tal como la formulación de células modificadas genéticamente resultantes de las etapas de procesamiento antes o después de la incubación, modificación por ingeniería genética y siembra, y/o una o más de otras etapas de procesamiento como se describe. En algunas divulgaciones, una o más de las etapas de procesamiento, incluyendo la formulación de células, puede realizarse en un sistema cerrado. En algunos casos, las células se procesan en una o más etapas (por ejemplo, realizadas en la cámara de centrífuga y/o sistema cerrado) para la fabricación, generación o producción de una terapia celular y/o las células modificadas por ingeniería genética pueden incluir la formulación de células, tal como la formulación de células modificadas genéticamente resultantes de las etapas de procesamiento antes o después del cultivo, por ejemplo, siembra y expansión, y/o una o más de otras etapas de procesamiento como se describe. En algunas divulgaciones, las células modificadas genéticamente se formulan como composiciones en forma de dosis unitaria que incluyen el número de células para la administración en una dosis dada o fracción de la misma.

En algunas divulgaciones, la dosis de células que comprende células modificadas por ingeniería genética con un receptor de antígeno recombinante, por ejemplo, CAR o TCR, se proporciona como una composición o formulación, tal como una composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones pueden usarse de acuerdo con los métodos que se divulgan, tal como en el tratamiento de enfermedades, afecciones y trastornos, o en métodos y usos y artículos de fabricación de detección, diagnóstico y pronóstico. En algunos casos, las células pueden formularse en una cantidad para la administración de la dosificación, tal como para la administración de dosificación unitaria única o la administración de dosificación múltiple.

En algunas divulgaciones, las células pueden formularse en un recipiente, tal como una bolsa o vial. En algunas divulgaciones, el vial puede ser un vial de infusión. En algunas divulgaciones, el vial se formula con una única dosis unitaria de las células modificadas por ingeniería genética, tal como que incluye el número de células para la administración en una dosis dada o fracción de la misma.

En algunas divulgaciones, las células se formulan en un tampón farmacéuticamente aceptable, que puede, en algunas divulgaciones, incluir un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas divulgaciones, el procesamiento incluye el intercambio de un medio en un medio o tampón de formulación que sea farmacéuticamente aceptable o deseado para la administración a un sujeto. En algunas divulgaciones, las etapas de procesamiento pueden implicar lavar las células transducidas y/o expandidas para reemplazar las células en un tampón farmacéuticamente aceptable que puede incluir uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables opcionales. Ejemplos de dichas formas farmacéuticas, incluyendo vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables, pueden ser cualquiera de las que se describen a continuación junto con formas aceptables para administrar las células y composiciones a un sujeto. La composición farmacéutica en algunas divulgaciones contiene las células en cantidades eficaces para tratar o prevenir la enfermedad o afección, tal como una cantidad terapéuticamente eficaz o profilácticamente eficaz.

En algunas divulgaciones, el tampón de formulación contiene un crioconservante. En algunas divulgaciones, las células se formulan con una solución crioconservante que contiene una solución de DMSO del 1,0 % al 30 %, tal como una solución de DMSO del 5 % al 20 % o una solución de DMSO del 5 % al 10 %. En algunas divulgaciones, la solución de crioconservación es o contiene, por ejemplo, PBS que contiene DMSO al 20 % y albúmina sérica humana (HSA) al 8 %, u otro medio de congelación celular adecuado. En algunas divulgaciones, la solución crioconservante es o contiene, por ejemplo, DMSO al menos o aproximadamente al 7,5 %. En algunas divulgaciones, las etapas de procesamiento pueden implicar lavar las células transducidas y/o expandidas para reemplazar las células en una solución crioconservante. En algunas divulgaciones, las células se congelan, por ejemplo, se crioprotegen o se crioconservan, en medio y/o solución con una concentración final de o de aproximadamente el 12,5 %, 12,0 %, 11,5 %, 11,0 %, 10,5 %, 10,0 %, 9,5 %, 9,0 %, 8,5 %, 8,0 %, 7,5 %, 7,0 %, 6,5 %, 6,0 %, 5,5 % o 5,0 % de DMSO, o entre el 1 % y el 15 %, entre el 6% y el 12%, entre el 5 % y el 10 %, o entre el

6 % y el 8 % de DMSO. En divulgaciones particulares, las células se congelan, por ejemplo, se crioprotegen o se crioconservan, en medio y/o solución con una concentración final de o de aproximadamente el 5,0 %, 4,5 %, 4,0 %, 3,5 %, 3,0 %, 2,5 %, 2,0 %, 1,5 %, 1,25 %, 1,0 %, 0,75 %, 0,5 % o 0,25 % de HSA, o entre el 0,1 % y el 5 %, entre el 0,25% y el 4%, entre el 0,5 % y el 2 %, o entre el 1 % y el 2 % de HSA.

En algunas divulgaciones, la formulación se realiza usando una o más etapas de procesamiento que incluyen lavar, diluir o concentrar las células, tales como las células cultivadas o expandidas. En algunas divulgaciones, el procesamiento puede incluir la dilución o concentración de las células a una concentración o un número deseados, tales como composiciones en forma de dosis unitaria que incluyen el número de células para la administración en una dosis dada o fracción de la misma. En algunas divulgaciones, las etapas de procesamiento pueden incluir una reducción de volumen para aumentar de ese modo la concentración de células según se desee. En algunas divulgaciones, las etapas de procesamiento pueden incluir una adición de volumen para disminuir de ese modo la concentración de células según se desee. En algunas divulgaciones, el procesamiento incluye añadir un volumen de un tampón de formulación a las células transducidas y/o expandidas. En algunas divulgaciones, el volumen del tampón de formulación es de desde o de aproximadamente 10 ml a 1000 ml, tal como al menos o al menos aproximadamente o aproximadamente o 50 ml, 100 ml, 200 ml, 300 ml, 400 ml, 500 ml, 600 ml, 700 ml, 800 ml, 900 ml o 1000 ml.

En algunas divulgaciones, dichas etapas de procesamiento para formular una composición celular se realizan en un sistema cerrado. Los ejemplos de dichas etapas de procesamiento pueden realizarse usando una cámara centrífuga junto con uno o más sistemas o kits asociados a un sistema de procesamiento celular, tal como una cámara centrífuga producida y comercializada por Biosafe SA, incluyendo aquellas para su uso con los sistemas de procesamiento celular Sepax® o Sepax 2®. Un sistema y un proceso de ejemplo se describen en la Publicación Internacional Número WO2016/073602. En algunas divulgaciones, el método incluye efectuar la expresión desde la cavidad interna de la cámara centrífuga de una composición formulada, que es la composición resultante de células formuladas en un tampón de formulación, tal como un tampón farmacéuticamente aceptable, en cualquiera de las divulgaciones anteriores como se describe. En algunas divulgaciones, la expresión de la composición formulada es en un recipiente, tal como los viales de los recipientes de material biomédico que se describen en el presente documento, que está unido operativamente como parte de un sistema cerrado con la cámara centrífuga. En algunas divulgaciones, los recipientes de material biomédico están configurados para la integración y/o conexión operable y/o están integrados o conectados operativamente, a un sistema o dispositivo cerrado que lleva a cabo una o más etapas de procesamiento. En algunas divulgaciones, el recipiente de material biomédico está conectado a un sistema en una línea de salida o posición de salida. En algunos casos, el sistema cerrado está conectado al vial del recipiente de material biomédico en el tubo de entrada. Los sistemas de cierre de ejemplo para su uso con los recipientes de material biomédico que se describen en el presente documento incluyen el sistema Sepax® y Sepax® 2.

En algunas divulgaciones, el sistema cerrado, tal como asociado a una cámara centrífuga o sistema de procesamiento celular, incluye un kit de salida de múltiples puertos que contiene un colector de tubos de múltiples vías asociado en cada extremo de una línea de tubos a un puerto al que se pueden conectar uno o una pluralidad de recipientes para la expresión de la composición formulada. En algunas divulgaciones, un número deseado o una pluralidad de viales, puede conectarse de manera estéril a uno o más, generalmente dos o más, tal como al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más de los puertos de la salida de múltiples puertos. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, uno o más recipientes, por ejemplo, recipientes de material biomédico, pueden unirse a los puertos, o a menos de todos los puertos. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, el sistema puede efectuar la expresión de la composición de salida en una pluralidad de viales de los recipientes de material biomédico.

En algunas divulgaciones, las células pueden expresarse en uno o más de la pluralidad de recipientes de salida, por ejemplo, viales, en una cantidad para la administración de dosificación, tal como para la administración de dosificación unitaria única o la administración de dosificación múltiple. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, los viales, pueden contener cada uno el número de células para la administración en una dosis dada o fracción de la misma. Por lo tanto, cada vial, en algunas divulgaciones, puede contener una única dosis unitaria para su administración o puede contener una fracción de una dosis deseada de manera que más de uno de la pluralidad de viales, tal como dos de los viales, o 3 de los viales, juntos constituyen una dosis para la administración. En algunas divulgaciones, 4 viales juntos constituyen una dosis para la administración.

Por lo tanto, los recipientes, por ejemplo, bolsas o viales, generalmente contienen las células que se han de administrar, por ejemplo, una o más dosis unitarias de las mismas. La dosis unitaria puede ser una cantidad o número de las células que se han de administrar al sujeto o el doble del número (o más) de las células que se han de administrar. Puede ser la dosis más baja o la dosis más baja posible de las células que se administrarían al sujeto. En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación que se divulgan incluyen uno o más de la pluralidad de recipientes de salida.

En algunas divulgaciones, cada uno de los recipientes, por ejemplo, bolsas o viales, comprende individualmente una dosis unitaria de las células. Por tanto en algunas divulgaciones, cada uno de los recipientes comprende el mismo o aproximadamente o sustancialmente el mismo número de células. En algunas divulgaciones, cada dosis unitaria

contiene exactamente o aproximadamente o al menos o al menos aproximadamente 1×10^6, 2×10^6, 5×10^6, 1×10^7, 5×10^7 o 1×10^8 células modificadas por ingeniería genética, células totales, linfocitos T o PBMC. En algunas divulgaciones, cada dosis unitaria contiene exactamente o aproximadamente o al menos o al menos aproximadamente 1×10^6, 2×10^6, 5×10^6, 1×10^7, 5×10^7 o 1×10^8 linfocitos T CAR+ que son CD3+, tal como CD4+ o CD8+, o un subconjunto viable de los mismos.

En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, está entre exactamente o aproximadamente 10 ml y exactamente o aproximadamente 100 ml, tal como exactamente o aproximadamente o al menos o al menos aproximadamente 20 ml, 30 ml, 40 ml, 50 ml, 60 ml, 70 ml, 80 ml, 90 ml o 100 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, está entre exactamente o aproximadamente 1 ml y exactamente o aproximadamente 10 ml, tal como entre exactamente o aproximadamente 1 ml y exactamente o aproximadamente 5 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, está entre exactamente o aproximadamente 4 ml y exactamente o aproximadamente 5 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, es o es de aproximadamente 4,4 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, es o es de aproximadamente 4,5 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, es o es de aproximadamente 4,6 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, es o es de aproximadamente 4,7 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, es o es de aproximadamente 4,8 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, es o es de aproximadamente 4,9 ml. En algunas divulgaciones, el volumen de la composición celular formulada en cada recipiente, por ejemplo, bolsa o vial, es o es de aproximadamente 5,0 ml.

En algunas divulgaciones, la composición celular formulada tiene una concentración de más de exactamente o aproximadamente $0,5 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $1,0 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $1,5 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $2,0 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml. más de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $2,6 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $2,7 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $2,8 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $2,9 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml más de exactamente o aproximadamente $3,0 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $3,5 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $4,0 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente $4,5 \times 10^6$ células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml o más de exactamente o aproximadamente 5×10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml. En algunas divulgaciones, las células CD3+ son linfocitos T CD4+. En algunas divulgaciones, las células CD3+ son linfocitos T CD8+. En algunas divulgaciones, los linfocitos T CD3+ son linfocitos T CD4+ y CD8+.

En algunas divulgaciones, las células en el recipiente, por ejemplo, bolsa o viales, puede crioconservarse. En algunas divulgaciones, el recipiente, por ejemplo, viales, puede almacenarse en nitrógeno líquido hasta su uso posterior.

En algunas divulgaciones, dichas células producidas mediante el método, o una composición que comprende dichas células, se administran a un sujeto para tratar una enfermedad o afección, por ejemplo, de acuerdo con los métodos, usos y artículos de fabricación que se describen en el presente documento.

IV. COMPOSICIONES Y FORMULACIONES

En algunas divulgaciones, la dosis de células que comprende células modificadas por ingeniería genética con un receptor de antígeno recombinante, por ejemplo, CAR o TCR, se proporciona como una composición o formulación, tal como una composición o formulación farmacéutica. Se han descrito anteriormente composiciones y formulaciones de ejemplo, incluyendo aquellas producidas en relación con métodos de modificación por ingeniería genética de las células. Dichas composiciones pueden usarse de acuerdo con los métodos o usos que se divulgan, y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, tal como en la prevención o el tratamiento de enfermedades, afecciones y trastornos, o en métodos de detección, diagnóstico y pronóstico.

La expresión "formulación farmacéutica" se refiere a una preparación que se encuentra en una forma que permite que la actividad biológica de un principio activo contenido en la misma sea eficaz, y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para un sujeto al que se le administre la formulación.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" es un ingrediente de una formulación farmacéutica, distinto de un principio activo, que no es tóxico para un sujeto. Un vehículo farmacéuticamente aceptable incluye, pero sin limitación, un tampón, excipiente, estabilizante o conservante.

En algunas divulgaciones, la elección del vehículo está determinada en parte por la célula o agente particular y/o por el método de administración. En consecuencia, existe una diversidad de formulaciones adecuadas. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede contener conservantes. Los conservantes adecuados pueden incluir, por ejemplo, metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sodio y cloruro de benzalconio. En algunas divulgaciones, se usa una mezcla de dos o más conservantes. El conservante o mezclas del mismo están normalmente presentes en una cantidad están normalmente presentes en una cantidad de aproximadamente el 0,0001 % a aproximadamente el 2 % en peso de la composición total. Los vehículos se describen, por ejemplo, en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16ª edición, Osol, A. Ed. (1980). Los vehículos farmacéuticamente aceptables son generalmente no tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen, pero sin limitación: tampones, tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilo amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; parabenos de alquilo tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (de menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos, tales como polietilenglicol (PEG).

En algunas divulgaciones se incluyen agentes tamponantes en las composiciones. Los agentes tamponantes adecuados incluyen, por ejemplo, ácido cítrico, citrato de sodio, ácido fosfórico, fosfato de potasio y diversos otros ácidos y sales. En algunas divulgaciones, se usa una mezcla de dos o más agentes tamponantes. El agente tamponante o mezclas del mismo están normalmente presentes en una cantidad de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente el 4 % en peso de la composición total. Se conocen métodos para preparar composiciones farmacéuticas administrables. Se describen métodos de ejemplo en más detalle en, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21.ª ed. (1 de mayo de 2005).

La formulación o composición también puede contener más de un principio activo útil para la indicación, enfermedad o afección particular que se previene o se trata con las células o agentes, donde las actividades respectivas no se afectan negativamente entre sí. Dichos principios activos están presentes de manera adecuada en combinaciones en cantidades que son eficaces para el fin previsto. Por lo tanto, en algunas divulgaciones, la composición farmacéutica incluye además otros agentes o fármacos farmacéuticamente activos, tales como agentes quimioterápicos, por ejemplo, asparaginasa, busulfán, carboplatino, cisplatino, daunorrubicina, doxorrubicina, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxiurea, metotrexato, paclitaxel, rituximab, vinblastina, vincristina, etc. En algunas divulgaciones, los agentes o células se administran en forma de sal, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas derivadas de ácidos minerales, tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, y ácidos orgánicos, tales como ácidos tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico y arilsulfónico, por ejemplo, ácido p-toluenosulfónico.

La composición farmacéutica en algunas divulgaciones contiene agentes o células en cantidades eficaces para tratar o prevenir la enfermedad o afección, tal como una cantidad terapéuticamente eficaz o profilácticamente eficaz. La eficacia terapéutica o profiláctica en algunas divulgaciones se controla mediante la evaluación periódica de los sujetos tratados. Para administraciones repetidas a lo largo de varios días o un período mayor, dependiendo de la afección, el tratamiento se repite hasta que se produzca una supresión deseada de los síntomas de enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles y pueden determinarse otras pautas posológicas. La dosificación deseada puede suministrarse mediante una única administración en bolo de la composición, mediante múltiples administraciones en bolo de la composición, o mediante la administración por infusión continua de la composición.

Los agentes o células pueden administrarse por cualquier medio adecuado, por ejemplo, mediante infusión en bolo, mediante inyección, por ejemplo, inyecciones intravenosas o subcutáneas, inyección intraocular, inyección periocular, inyección subretiniana, inyección intravítrea, inyección trans-septal, inyección subescleral, inyección intracoroidal, inyección intracameral, inyección subconjuntiva, inyección subtenoniana, inyección retrobulbar, inyección peribulbar o suministro yuxtaescleral posterior. En algunas divulgaciones, se administran por vía parenteral, por vía intrapulmonar e intranasal, y, si se desea para un tratamiento local, administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o

subcutánea. En algunas divulgaciones, una dosis dada se administra mediante una única administración en bolo de las células o agente. En algunas divulgaciones, se administra mediante múltiples administraciones en bolo de las células o agente, por ejemplo, durante un período de no más de 3 días, o mediante la administración por infusión continua de las células o agente.

Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosificación adecuada puede depender del tipo de enfermedad que ha de tratarse, del tipo de agente o agentes, del tipo de células o receptores recombinantes, la gravedad y la evolución de la enfermedad, si el agente o las células se administran con fines preventivos o terapéuticos, la terapia anterior, los antecedentes clínicos del sujeto y la respuesta al agente o las células, y el criterio del médico especialista. Las composiciones se administran en algunas divulgaciones de manera adecuada al sujeto de una sola vez o durante una serie de tratamientos.

Las células o agentes pueden administrarse usando técnicas, formulaciones y/o dispositivos de administración convencionales. Se divulgan formulaciones y dispositivos, tales como jeringas y viales, para el almacenamiento y la administración de las composiciones. Con respecto a las células, la administración puede ser autóloga o heteróloga. Por ejemplo, las células o progenitores inmunosensibles pueden obtenerse de un sujeto y administrarse al mismo sujeto o a un sujeto diferente, compatible. Se pueden administrar células de respuesta inmunitaria derivadas de sangre periférica o su progenie (p. Ej., derivadas *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*) mediante inyección localizada, incluyendo administración por catéter, inyección sistémica, inyección localizada, inyección intravenosa o administración parenteral. Cuando se administra una composición terapéutica (por ejemplo, una composición farmacéutica que contiene una célula inmunosensible modificada genéticamente o un agente que trata o mejora los síntomas de la neurotoxicidad), generalmente se formulará en una forma farmacéutica inyectable unitaria (solución, suspensión, emulsión).

Las formulaciones incluyen aquellas para la administración oral, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, pulmonar, transdérmica, intramuscular, intranasal, bucal, sublingual o por supositorio. En algunas divulgaciones, el agente o las poblaciones celulares se administran por vía parenteral. El término "parenteral", como se usa en el presente documento, incluye administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, rectal, vaginal e intraperitoneal. En algunas divulgaciones, el agente o las poblaciones celulares se administran a un sujeto usando suministro sistémico periférico por inyección intravenosa, intraperitoneal o subcutánea.

En algunas divulgaciones, las composiciones se proporcionan como preparaciones líquidas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas isotónicas, suspensiones, emulsiones, dispersiones o composiciones viscosas, que en algunas divulgaciones pueden tamponarse a un pH seleccionado. Las preparaciones líquidas son normalmente más fáciles de preparar que los geles, otras composiciones viscosas y composiciones sólidas. Adicionalmente, las composiciones líquidas son algo más cómodas de administrar, especialmente por inyección. Pueden formularse composiciones viscosas, por otro lado, dentro del intervalo de viscosidad adecuado para proporcionar períodos de contacto más largos con tejidos específicos. Las composiciones líquidas o viscosas pueden comprender vehículos, que puede ser un medio disolvente o de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido) y mezclas adecuadas de los mismos.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el agente o las células en un disolvente, tal como en mezcla con un vehículo, diluyente o excipiente adecuado tal como agua estéril, solución salina fisiológica, glucosa, dextrosa o similares.

Las formulaciones que se van a usar para la administración *in vivo* son, generalmente, estériles. La esterilidad puede lograrse fácilmente, por ejemplo, mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

En algunas divulgaciones, la dosis de células administrada es en una composición crioconservada. En algunas divulgaciones, la composición se administra después de descongelar la composición crioconservada. En algunas divulgaciones, la composición se administra dentro de exactamente o aproximadamente 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 150 minutos o 180 minutos después de la descongelación. En algunas divulgaciones, la composición se administra dentro de exactamente o aproximadamente 120 minutos después de la descongelación.

En algunas divulgaciones, la dosis de células se administra con una jeringa. En algunas divulgaciones, la jeringa tiene un volumen de exactamente o aproximadamente 0,5, 1, 2, 2,5, 3, 4, 5, 7,5, 10, 20 o 25 ml, o un intervalo definido por cualquiera de los anteriores.

V. TERAPIA DE COMBINACIÓN

En algunas divulgaciones de los métodos, artículos de fabricación, usos o composiciones divulgados, la terapia celular, por ejemplo, dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR^+) se administra a sujetos en combinación con un agente terapéutico o terapia adicional, generalmente distintos de la terapia celular u otra terapia celular, tal como distinta a la terapia de linfocitos T CAR^+. En algunas divulgaciones, la terapia celular, por ejemplo la dosis de

linfocitos T modificados por ingeniería genética, tal como linfocitos T CAR$^+$, en los métodos o usos divulgados y/o con los artículos de fabricación o composiciones, se administra una parte de un tratamiento combinado o terapia combinada, tal como simultáneamente con, secuencialmente con o intermitentemente con, en cualquier orden, una o más intervenciones terapéuticas adicionales. En algunas divulgaciones, la una o más intervenciones terapéuticas adicionales incluyen cualquier agente o tratamiento para tratar o prevenir la enfermedad o afección, tal como linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) o un subtipo del mismo o la neoplasia maligna de linfocitos B, p. ej. LNH y/o cualquier agente o tratamiento para aumentar la eficacia, persistencia y/o actividad de la terapia de células modificadas por ingeniería genética.

En algunas divulgaciones, se administra un agente terapéutico o terapia adicional a sujetos que son o es probable que sean o que se predice que tendrán una mala respuesta y/o que no lo hacen, es probable que no respondan y/o se predice que no responderán o no responderán dentro de un determinado tiempo y/o en determinada medida al tratamiento con la terapia celular, por ejemplo, una dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR$^+$). En algunas divulgaciones, el agente terapéutico adicional se administra a sujetos que no exhiben, o no es probable que exhiban, o no se predice que exhibirán, una respuesta completa o una respuesta global, tal como dentro de 1 mes, dentro de dos meses o dentro de 3 meses después del inicio de la administración de la terapia celular. En algunas divulgaciones, el agente terapéutico adicional se administra a sujetos que presentan o es probable que presenten o que se predice que presentarán una progresión de la enfermedad (PE), tal como dentro de 1 mes, dos meses o 3 meses, después de la administración de la terapia celular. En algunas divulgaciones, es probable o se predice que un sujeto no exhibirá una respuesta o una determinada respuesta basada en una pluralidad de sujetos en situación similar tratados de esta manera o tratados previamente con la terapia celular.

En algunas divulgaciones, se observa que un sujeto que puede o que tiene más probabilidades de exhibir una mala respuesta a la terapia celular, por ejemplo, dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR$^+$) incluye un sujeto con LNH que se identifica o se ha identificado que tiene un cáncer estable o progresión de la enfermedad (CE/PE) después del tratamiento con una terapia anterior, opcionalmente una terapia anterior con un agente quimioterápico, que es o ha sido identificado con un estado funcional del Grupo Cooperativo de Oncología del Este (ECOG) de 2, que se identifica o se ha identificado que tiene un linfoma folicular transformado (LFt), o que se identifica o se ha identificado que tiene un LDLBG transformado a partir de LZM y LLC. En algunas divulgaciones, los métodos divulgados incluyen seleccionar un sujeto que presenta o es probable que presente una mala respuesta a una terapia celular cuando la terapia celular se administra sola, y administrar la terapia celular en combinación con un agente o terapia adicional, tal como cualesquiera que se describen. En algunas divulgaciones, el sujeto para tratamiento en los métodos de terapia combinada divulgados es un sujeto que se selecciona por tener una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como LNH, y que tiene un cáncer estable o progresión de la enfermedad (CE/PE) después del tratamiento con una terapia anterior, opcionalmente una terapia anterior con un agente quimioterápico, que tiene un estado funcional del Grupo Cooperativo de Oncología del Este (ECOG) de 2, que tiene un linfoma folicular transformado (LFt), o que tiene un LDLBG transformado a partir de LZM y LLC. En algunas divulgaciones, el agente o terapia adicional puede administrarse antes, concomitantemente con o al mismo tiempo y/o posteriormente al inicio de la administración de la terapia celular, por ejemplo, una dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR$^+$).

En determinadas divulgaciones, se encuentra que la farmacocinética (PK) de la terapia celular en la sangre de sujetos después de la administración de la terapia celular es similar o no sustancialmente diferente entre los sujetos que responden (por ejemplo, muestran una RC o RO) versus los que no responden (por ejemplo, muestran PE) a la terapia celular. En algunas divulgaciones, tales observaciones indican que la terapia celular se ha expandido o se está expandiendo en el sujeto pero puede no exhibir una eficacia óptima.

En algunos contextos, la eficacia óptima de una terapia celular puede depender de la capacidad de las células administradas para reconocer y unirse a una diana, por ejemplo, antígeno diana, para transitar, localizar e ingresar satisfactoriamente a sitios apropiados dentro del sujeto, tumores y entornos de los mismos. En algunos contextos, la eficacia óptima puede depender de la capacidad de las células administradas para activarse, expandirse, ejercer diversas funciones efectoras, incluyendo la muerte citotóxica y la secreción de diversos factores como citocinas, para persistir, incluso a largo plazo, para diferenciarse, transitar o participar en la reprogramación hacia ciertos estados fenotípicos (como la memoria de larga duración, estados menos diferenciados y efectores), para evitar o reducir las condiciones inmunosupresoras en el microentorno local de una enfermedad, para proporcionar respuestas de recuperación efectivas y sólidas después de la eliminación y la reexposición al ligando o antígeno diana, y evitar o reducir el agotamiento, anergia, tolerancia periférica, diferenciación terminal y/o diferenciación a un estado supresor.

En algunas divulgaciones, la eficacia de la inmmunoterapia, *por ejemplo,* terapia de linfocitos T, puede estar limitada por la actividad inmunosupresora o factores presentes en el microambiente local de la enfermedad o trastorno, *por ejemplo,* la TME. En algunas divulgaciones, la TME contiene o produce factores o condiciones que pueden suprimir la actividad, función, proliferación, supervivencia y/o persistencia de linfocitos T administrados para terapia de linfocitos T.

En algunas divulgaciones, la administración de un agente o terapia adicional, antes de, concomitantemente con o al

mismo tiempo y/o posteriormente al inicio de la administración de la terapia celular, por ejemplo, una dosis de linfocitos T (por ejemplo, linfocitos T CAR$^+$) puede dar como resultado un aumento de la actividad, eficacia y/o persistencia de la terapia celular y/o mejorar las respuestas del sujeto tratado. En algunas divulgaciones, el agente adicional para el tratamiento combinado o la terapia combinada mejora, potencia y/o promueve la eficacia y/o seguridad del efecto terapéutico de la terapia celular, p. ej. terapia de linfocitos T modificados por ingeniería genética, tal como linfocitos T CAR$^+$. En algunas divulgaciones, el agente adicional potencia o mejora la eficacia, supervivencia o persistencia de las células administradas, por ejemplo, células que expresan el receptor recombinante, por ejemplo, CAR.

En algunas divulgaciones, el agente adicional de terapia es un anticuerpo o un agente citotóxico o terapéutico, por ejemplo, un agente antineoplásico. En algunas divulgaciones, el uno o más agentes adicionales para el tratamiento o terapia es un agente inmunomodulador, inhibidor del punto de control inmunológico, antagonista o agonista de la ruta de adenosina o del receptor de adenosina e inhibidores de cinasas. En algunas divulgaciones, el tratamiento combinado o la terapia combinada incluye un tratamiento adicional, tal como un tratamiento quirúrgico, trasplante y/o radioterapia.

En algunas divulgaciones, el agente adicional se selecciona entre un inhibidor de la proteína fosfatasa, un inhibidor de cinasas, una citocina, un inmunomodulador o un agente que disminuye el nivel o la actividad de un linfocito T regulador (Treg). En algunas divulgaciones, el agente adicional mejora la seguridad, en virtud de reducir o mejorar los efectos adversos de la terapia celular administrada. En algunas divulgaciones, el agente adicional puede tratar la misma enfermedad, afección o comorbilidad. En algunas divulgaciones, el agente adicional puede mejorar, reducir o eliminar una o más toxicidades, efectos adversos o efectos secundarios que están asociados con la administración de las células, por ejemplo, células que expresan CAR.

En algunas divulgaciones, la terapia, tratamiento o agente adicionales incluyen quimioterapia, radioterapia, cirugía, trasplante, terapia celular adoptiva, anticuerpos, agentes citotóxicos, agentes quimioterapéuticos, citocinas, agentes inhibidores del crecimiento, agentes antihormonales, inhibidores de cinasas, agentes antiangiogénicos, cardioprotectores, agentes inmunomoduladores, agentes inmunosupresores, inhibidores del punto de control inmunitario, antibióticos, inhibidores de la angiogénesis, moduladores metabólicos u otros agentes terapéuticos o cualquier combinación de los mismos. En algunas divulgaciones, el agente adicional es una proteína, un péptido, un ácido nucleico, un agente de molécula pequeña, una célula, una toxina, un lípido, un hidrato de carbono o combinaciones de los mismos, o cualquier otro tipo de agente terapéutico, por ejemplo radiación. En algunas divulgaciones, la terapia, agente o tratamiento adicional incluye cirugía, quimioterapia, radioterapia, trasplante, administración de células que expresan un receptor recombinante, por ejemplo, CAR, inhibidor de cinasa, inhibidor del punto de control inmunológico, inhibidor de la ruta de mTOR, agentes inmunosupresores, inmunomoduladores, anticuerpos, agentes inmunoablativos, anticuerpos y/o fragmentos de unión a antígeno del mismo, conjugados de anticuerpos, otras terapias con anticuerpos, citotoxinas, esteroides, citocinas, vacunas peptídicas, terapia hormonal, antimetabolitos, moduladores metabólicos, medicamentos que inhiben la fosfatasa calcineurina dependiente del calcio o la cinasa p70S6 FK506) o inhiben la cinasa p70S6, agentes alquilantes, antraciclinas, alcaloides vinca, inhibidores del proteosoma, agonistas de GITR, inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa, inhibidores de proteína cinasa, un virus oncolítico y/u otros tipos de inmunoterapia. En algunas divulgaciones, el agente o tratamiento adicional es el trasplante de médula ósea, terapia ablativa de linfocitos T usando agentes antineoplásicos tal como, fludarabina, radioterapia de haz externo (XRT), ciclofosfamida y/o terapia con anticuerpos.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un inhibidor de cinasas, por ejemplo, un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (Btk), por ejemplo, ibrutinib. En algunas divulgaciones, el agente adicional es un antagonista o agonista de la ruta de adenosina o del receptor de adenosina. En algunas divulgaciones, el agente adicional es un inmunomodulador tal como talidomida o un derivado de talidomida (por ejemplo, lenalidomida). En algunas divulgaciones, la terapia adicional, el agente o tratamiento es un agente citotóxico o quimioterápico, una terapia biológica (por ejemplo, anticuerpo, por ejemplo, anticuerpo monoclonal o terapia celular) o un inhibidor (p. ej., inhibidor de cinasas).

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un agente quimioterápico. Los agentes quimioterápicos a modo de ejemplo incluyen una antracilina (por ejemplo, doxorubicina, como doxorrubicina liposomal); u alcaloide de la vinca (por ejemplo, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina); un agente de alquilación (por ejemplo, cyclophosphamid209zacytidineine, melfalán, ifosfamida, temozolomida); un anticuerpo de célula inmunitaria (por ejemplo, alemtuzamab, gemtuzumab, rituximab, tositumomab); un antimetabolito (que incluye, por ejemplo, antagonistas de ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa tal como fludarabina); un agonista de proteína relacionada con TNFR inducida por glucocorticoide TNFR (GITR); un inhibidor del proteasoma (por ejemplo, aclacinomicina A, gliotoxina o bortezomib); un inmunomodulador tal como talidomida o un derivado de talidomida (por ejemplo, lenalidomida).

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un agente inmunomodulador. En algunas divulgaciones, la terapia combinada incluye un agente inmunomodulador que puede estimular, amplificar y/o potenciar de otro modo una respuesta inmunitaria antitumoral, p.ej. respuesta inmunitaria antitumoral de las células modificadas por ingeniería genética administradas, tal como inhibiendo la señalización inmunosupresora o potenciando la señalización

inmunoestimulante. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un péptido, proteína o es una molécula pequeña. En algunas divulgaciones, la proteína puede ser una proteína de fusión o una proteína recombinante. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador se une a una diana inmunológica, tal como un receptor de superficie celular expresado en células inmunitarias, tales como linfocitos T, linfocitos B o células presentadoras de antígeno. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo de unión a antígeno, una proteína de fusión, una molécula pequeña o un polipéptido. En algunas divulgaciones, las moléculas de unión, receptores recombinantes, las células y/o composiciones se administran en combinación con un agente adicional que es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tal como un anticuerpo monoclonal.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador bloquea, inhibe o contrarresta un componente de la vía del punto de control inmunológico. El sistema inmunitario tiene múltiples vías inhibidoras que están implicadas en el mantenimiento de la autotolerancia y en la modulación de las respuestas inmunitarias. Los tumores pueden usar determinadas vías de puntos de control inmunitario como un mecanismo importante de resistencia inmunitaria, particularmente contra los linfocitos T que son específicos para antígenos tumorales (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264), p. ej., células modificadas por ingeniería genética como las células que expresan CAR. Debido a que muchos de estos puntos de control inmunitario se inician por interacciones ligando-receptor, pueden bloquearse fácilmente mediante anticuerpos contra los ligandos y/o sus receptores. A diferencia de la mayoría de los agentes anticancerosos, los inhibidores de puntos de control no necesariamente se dirigen directamente a las células tumorales, sino que se dirigen a los receptores de linfocitos o sus ligandos para potenciar la actividad antitumoral endógena del sistema inmunitario.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un agente inmunomodulador que es una molécula antagonista o es un inhibidor de puntos de control inmunológico capaz de inhibir o bloquear una función de una molécula o vía de señalización, implicando una molécula de punto de control inmunológico. En algunas divulgaciones, la molécula o vía de punto de control inmunológico es PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA-4, LAG-3, TIM3, VISTA, receptor de adenosina 2A (A2AR), o adenosina o una vía que implique cualquiera de los anteriores. En determinadas divulgaciones, las moléculas antagonistas que bloquean una vía de punto de control inmunológico, tal como moléculas pequeñas, inhibidores de ácidos nucleicos (*por ejemplo*, iARN) o moléculas de anticuerpo, se están convirtiendo en vías prometedoras de inmunoterapia para el cáncer y otras enfermedades.

En algunas divulgaciones, El inhibidor del punto de control inmunológico es una molécula que reduce total o parcialmente, inhibe, interfiere o modula una o más proteínas de punto de control. Las proteínas de puntos de control regulan la activación o función de los linfocitos T. Estas proteínas son responsables de las interacciones inhibidoras o coestimuladoras de las respuestas de los linfocitos T. Las proteínas de puntos de control inmunitario regulan y mantienen la autotolerancia y la duración y amplitud de las respuestas inmunitarias fisiológicas.

Los inhibidores de puntos de control inmunitario incluyen cualquier agente que bloquee o inhiba de manera estadísticamente significativa, las vías inhibidoras del sistema inmunitario. Dichos inhibidores pueden incluir inhibidores de molécula pequeña o pueden incluir anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a y bloquean o inhiben receptores de punto de control inmunológico, ligandos y/o interacción receptor-ligando. En algunas divulgaciones, la modulación, la mejora y/o estimulación de receptores particulares puede superar los componentes de la vía de los puntos de control inmunológico. Las moléculas de punto de control inmunológico ilustrativas que pueden dirigirse para el bloqueo, la inhibición, la modulación, la mejora y/o estimulación incluyen, pero sin limitación, PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274, B7-H1), PDL2 (CD273, B7-DC), CTLA-4, LAG-3 (CD223), TIM-3, 4-1BB (CD137), 4-1BBL (CD137L), GITR (TNFRSF18, AITR), CD40, OX40 (CD134, TNFRSF4), CXCR2, antígenos asociados a tumores (TAA), B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, B7H3, B7H4, VISTA, KIR, 2B4 (pertenece a la familia de moléculas de CD2 y se expresa en todas las NK, γδ, y linfocitos T $CD8^+$ (αβ) de memoria), CD160 (también denominado BY55), CGEN-15049, CEACAM (por ejemplo, CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5), TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CD80, CD86, B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), HVEM (TNFRSF14 o CD270), KIR, A2aR, MHC de clase I, MHC de clase II, GAL9, adenosina, y un receptor de factor de crecimiento transformante (TGFR; por ejemplo, TGFR beta). Los inhibidores de punto de control inmunológico incluyen anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, u otras proteínas de unión, que se unen y bloquean o inhiben y/o mejoran o estimulan la actividad de una o más de cualquiera de dichas moléculas.

Inhibidores de punto de control inmunológico a modo de ejemplo incluyen tremelimumab (anticuerpo que bloquea CTLA-4, también conocido como ticilimumab, CP-675,206), anti-OX40, anticuerpo monoclonal de PD-L1 (anti-B7-H1; MEDI4736), MK-3475 (bloqueador de PD-1), nivolumab (anticuerpo anti-PD-1), CT-011 (anticuerpo anti-PD-1), anticuerpo monoclonal BY55, AMP224 (anticuerpo anti-PD-L1), BMS-936559 (anticuerpo anti-PD-L1), MPLDL3280A (anticuerpo anti-PD-L1), MSB0010718C (anticuerpo anti-PD-L1) y ipilimumab (anticuerpo anti-CTLA-4, también conocido como Yervoy®, MDX-010 y MDX-101). Ejemplos de anticuerpos inmunomoduladores incluyen, pero sin limitación, daclizumab (Zenapax), bevacizumab (Avastin®), basiliximab, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab, MPDL3280A, pidilizumab (CT-011), MK-3475, BMS-936559, MPDL3280A (Atezolizumab), tremelimumab, IMP321, BMS-986016, LAG525, urelumab, PF-05082566, TRX518, MK-4166, dacetuzumab (SGN-40), lucatumumab (HCD122), SEA-CD40, CP-870, CP-893, MEDI6469, MEDI6383, MOXR0916, AMP-224, MSB0010718C (Avelumab), MEDI4736, PDR001, rHIgM12B7, ulocuplumab, BKT140, varlilumab (CDX-1127), ARGX-110, MGA271, lirilumab

(BMS-986015, IPH2101), IPH2201, ARGX-115, emactuzumab, CC-90002 y MNRP1685A o un fragmento de unión a anticuerpo de los mismos. Otros inmunomoduladores a modo de ejemplo incluyen, por ejemplo, afutuzumab (disponible en Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimid (CC4047); y IRX-2 (mezcla de citocinas humanas que incluyen interleucina 1, interleucina 2 e interferón gamma, CAS 951209-71-5, disponible en IRX Therapeutics).

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que se une y/o inhibe la muerte celular programada 1 (PD-1). PD-1 es una proteína de punto de control inmunológico que se expresa en linfocitos B, linfocitos NK y linfocitos T (Shinohara et al., 1995, Genomics 23:704-6; Blank *et al.*, 2007, Cancer Immunol Immunother 56:739-45; Finger et al., 1997, Gene 197:177-87; Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). El papel principal de PD-1 es limitar la actividad de los linfocitos T en los tejidos periféricos durante la inflamación en respuesta a la infección, así como para limitar la autoinmunidad. La expresión de PD-1 se induce en linfocitos T activados y la unión de PD-1 a uno de sus ligandos endógenos actúa para inhibir la activación de linfocitos T mediante inhibición de cinasas estimuladoras. PD-1 también actúa para inhibir la "señal de terminación" de TCR. PD-1 se expresa mucho en linfocitos Treg y puede aumentar su proliferación en la presencia de ligando (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Los anticuerpos anti-PD 1 se han utilizado para el tratamiento de melanoma, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama triple negativo, leucemia, linfoma y cáncer de células renales (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Lipson et al., 2013, Clin Cancer Res 19:462-8; Berger y col., 2008, Clin Cancer Res 14:3044-51; Gildener-Leapman et al., 2013, Oral Oncol 49:1089-96; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85). Los anticuerpos anti-PD-1 ilustrativos incluyen nivolumab (Opdivo de BMS), pembrolizumab (Keytruda de Merck), pidilizumab (CT-011 de Cure Tech), lambrolizumab (MK-3475 de Merck) y AMP-224 (Merck), nivolumab (también denominado Opdivo, BMS-936558 o MDX1106; Bristol-Myers Squibb) es un anticuerpo monoclonal de IgG4 completamente humano que bloquea específicamente PD-1. Nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se describen en los documentos US 8.008.449 y WO2006/121168. El pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD-1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se describen en el documento WO2009/101611. Pembrolizumab (anteriormente conocido como lambrolizumab y también conocido como Keytruda, MK03475; Merck) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD-1. Pembrolizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se describen en los documentos US 8.354.509 y WO2009/114335. Otros anticuerpos anti-PD-1 incluyen AMP 514 (Amplimmune), entre otras, por ejemplo, anticuerpos anti-PD-1 descritos en los documentos US 8.609.089, US 2010028330, US 20120114649 y/o US 20150210769. AMP-224 (B7-DCIg; El amplimmune; por ejemplo, descrito en los documentos WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor soluble de fusión PD-L2 Fc que bloquea la interacción entre PD-1 y B7-H1.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que se une a o inhibe PD-L1 (también conocido como CD274 y B7-H1) y/o PD-L2 (también conocido como CD273 y B7-DC). PD-L1 y PD-L2 son ligandos para PD-1, que se encuentran en linfocitos T activados, linfocitos B, células mieloides, macrófagos y algunos tipos de células tumorales. Las terapias antitumorales se han centrado en los anticuerpos anti-PD-L1. El complejo de PD-1 y PD-L1 inhibe la proliferación de linfocitos T $CD8^+$ y reduce la respuesta inmunitaria (Topalian et al., 2012, N Engl J Med 366:2443-54; Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65). Los anticuerpos anti-PD-L1 se han utilizado para el tratamiento del cáncer de pulmón no microcítico, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de células renales, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de mama y neoplasias malignas hematológicas (Brahmer et al., 2012, N Eng J Med 366:2455-65; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300-9; Radvanyi et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5541; Menzies & Long, 2013, Ther Adv Med Oncol 5:278-85; Berger y col., 2008, Clin Cancer Res 14:13044-51). Los anticuerpos anti-PD-L1 ilustrativos incluyen MDX-1105 (Medarex), MEDI4736 (Medimmune) MPDL3280A (Genentech), BMS-935559 (Bristol-Myers Squibb) y MSB0010718C. MEDI4736 (Medimmune) es un anticuerpo monoclonal humano que se une a PD-L1 e inhibe la interacción del ligando con PD-1. MDPL3280A (Genentech/Roche) es un anticuerpo monoclonal de IgG1 optimizado de Fc humano que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos contra PD-L1 se describen en Patente de EE.UU. nº 7.943.743 y Publicación de EE. UU. No. 20120039906. Otros agentes de unión anti-PD-L1 incluyen YW243.55.S70 (véase el documento WO2010/077634) y MDX-1105 (también conocido como BMS-936559, y, por ejemplo, agentes de unión anti-PD-L1 descritos en el documento WO2007/005874).

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que es un inhibidor del antígeno asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), también conocido como CD152, o se une a CTLA-4. CTLA-4 es una molécula co-inhibidora que actúa para regular la activación de linfocitos T. CTLA-4 es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas que se expresa exclusivamente en los linfocitos T. CTLA-4 actúa para inhibir la activación de linfocitos T y se informa que inhibe la actividad de linfocitos T auxiliares y potencia la actividad inmunosupresora de linfocitos T reguladores. Aunque el mecanismo de acción preciso de CTLA-4 continúa en investigación, se ha sugerido que inhibe la activación de los linfocitos T al superar a CD28 en la unión a CD80 y CD86, además de entregar activamente señales inhibidoras a los linfocitos T (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Los anticuerpos anti-CTLA-4 se han utilizado en ensayos clínicos para el tratamiento de melanoma, cáncer de próstata,

cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón de células no pequeñas (Robert & Ghiringhelli, 2009, Oncologist 14:848-61; Ott et al., 2013, Clin Cancer Res 19:5300; Weber, 2007, Oncologist 12:864-72; Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89). Una característica importante de anti-CTLA-4 es la cinética del efecto antitumoral, con un periodo de demora de hasta 6 meses después del tratamiento inicial requerido para la respuesta fisiológica. En algunos casos, los tumores en realidad pueden aumentar de tamaño después del inicio del tratamiento, antes de que se observe una reducción (Pardoll (2012) Nature Reviews Cancer 12:252-264). Los anticuerpos anti-CTLA-4 ilustrativos incluyen ipilimumab (Bristol-Myers Squibb) y tremelimumab (Pfizer). Ipilimumab ha recibido recientemente la aprobación de la FDA para el tratamiento de melanoma metastásico (Wada et al., 2013, J Transl Med 11:89).

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que se une a y/o inhibe el gen de activación de linfocitos 3 (LAG-3), también conocido como CD223. LAG-3 es otra proteína del punto de control inmunológico. LAG-3 se ha asociado a la inhibición de la actividad linfocítica y en algunos casos la inducción de anergia linfocítica. LAG-3 se expresa en varias células del sistema inmunitario, incluidos los linfocitos B, células NK y células dendríticas. LAG-3 es un ligando natural para el receptor MHC de clase II, que se expresa sustancialmente en linfocitos T infiltrantes de melanoma, incluidos aquellos dotados de una potente actividad inmunosupresora. Los anticuerpos anti-LAG-3 a modo de ejemplo incluyen BMS-986016 (Bristol-Myers Squib), que es un anticuerpo monoclonal que se dirige a LAG-3. IMP701 (Immutep) es un anticuerpo LAG-3 antagonista e IMP731 (Immutep y GlaxoSmithKline) es un anticuerpo LAG-3 agotador. Otros inhibidores de LAG-3 incluyen IMP321 (Immutep), que es una proteína de fusión recombinante de una porción soluble de LAG-3 e Ig que se une a moléculas del MHC de clase II y activa las células presentadoras de antígenos (APC). Otros anticuerpos se describen, por ejemplo, en los documentos WO2010/019570 y US 2015/0259420.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que se une a y/o inhibe el dominio de inmunoglobulina de linfocitos T y el dominio de mucina 3 (TIM-3). TIM-3 se identificó inicialmente en células Th1 activadas, ha demostrado ser un regulador negativo de la respuesta inmunitaria. El bloqueo de TIM-3 promueve la inmunidad antitumoral mediada por linfocitos T y tiene actividad antitumoral en una variedad de modelos de tumores en ratones. Las combinaciones de bloqueo de TIM-3 con otros agentes inmunoterapéuticos tales como TSR-042, anticuerpos anti-CD137 y otros, pueden ser aditivas o sinérgicas en el aumento de los efectos antitumorales. La expresión de TIM-3 se ha asociado con varios tipos de tumores diferentes, incluido melanoma, NSCLC y cáncer renal, y además, se ha demostrado que la expresión de TIM-3 intratumoral se correlaciona con un mal pronóstico en una variedad de tipos de tumores, incluido NSCLC, cánceres de cuello uterino y gástricos. El bloqueo de TIM-3 también es de interés para promover una mayor inmunidad frente a una serie de enfermedades víricas crónicas. También se ha demostrado que TIM-3 interactúa con varios ligandos, incluidos galectina-9, fosfatidilserina y HMGB1, aunque cual de estos, si alguno, son relevantes en la regulación de respuestas anti-tumores no está claro actualmente. En algunas divulgaciones, anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, moléculas pequeñas o inhibidores peptídicos que se dirigen a TIM-3 pueden unirse al dominio IgV de TIM-3 para inhibir la interacción con sus ligandos. Anticuerpos y péptidos a modo de ejemplo que inhiben TIM-3 se describen en los documentos US 2015/0218274, WO2013/006490 y US 2010/0247521. Otros anticuerpos anti-TIM-3 incluyen versiones humanizadas de RMT3-23 (Ngiow et al., 2011, Cancer Res, 71:3540-3551), y clon 8B.2C12 (Monney et al., 2002, *Nature*, 415:536-541). Los anticuerpos biespecíficos que inhiben TIM-3 y PD-1 se describen en US 2013/0156774.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que es un inhibidor de CEACAM (p. ej., inhibidor CEACAM-1, CEACAM-3 y/o CEACAM-5). En algunas divulgaciones, el inhibidor de CEACAM es una molécula de anticuerpo anti-CEACAM. Los anticuerpos anti-CEACAM-1 a modo de ejemplo se describen en los documentos WO 2010/125571, WO 2013/082366 WO 2014/059251 y WO 2014/022332, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal 34B1, 26H7 y 5F4; o una forma recombinante del mismo, como se describe en, por ejemplo, US 2004/0047858, US 7,132,255 y WO 99/052552. En algunas divulgaciones, el anticuerpo anti-CEACAM se une a CEACAM-5 como se describe en, por ejemplo, Zheng et al. PLoS One. (2011) 6(6): e21146), o reacciona de forma cruzada con CEACAM-1 y CEACAM-5 como se describe en, por ejemplo, los documentos WO 2013/054331 y WO 2014/0271618.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que se une a y/o inhibe 4-1BB, también conocido como CD137. 4-1BB es una glicoproteína transmembrana que pertenece a la superfamilia de TNFR. Los receptores de 4-1BB están presentes en los linfocitos T activados, linfocitos B y monocitos. Un anticuerpo anti-4-1BB ilustrativo es urelumab (BMS-663513), que tiene actividades inmunoestimuladoras y antineoplásicas potenciales.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que se une a y/o inhibe la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, miembro 4 (TNFRSF4), también conocido como OX40 y CD 134. TNFRSF4 es otro miembro de la superfamilia de TNFR. OX40 no se expresa de forma constitutiva en los linfocitos T vírgenes en reposo y actúa como una molécula de puntos de control inmunitario coestimuladora

secundaria. Anticuerpos anti-OX40 ilustrativos son MEDI6469 y MOXR0916 (RG7888, Genentech).

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente o una molécula que disminuye la población de linfocitos T reguladores (Treg). Los métodos que disminuyen el número de (por ejemplo, agotan) los linfocitos Treg son conocidos e incluyen, por ejemplo, reducción de CD25, administración de ciclofosfamida y modulación de la función del gen relacionado con la familia de TNFR inducido por glucocorticoides (GITR). GITR es un miembro de la superfamilia de TNFR que se regula por incremento en linfocitos T activados, que potencia el sistema inmunitario. Reducir el número de linfocitos Treg en un sujeto antes de la aféresis o antes de la administración de células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR, puede reducir la cantidad de células inmunitarias no deseadas (por ejemplo, Treg) en el microentorno del tumor y reduce el riesgo de recaída del sujeto. En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye una molécula que se dirige a GITR y/o modula las funciones de GITR, tal como un agonista de GITR y/o un anticuerpo de GITR que agota los linfocitos T reguladores (Treg). En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye ciclofosfamida. En algunas divulgaciones, la molécula de unión a GITR y/o la molécula que modula la función de GITR (por ejemplo, agonista de GITR y/o anticuerpos GITR que agotan Treg) se administran antes de las células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agonista de GITR se puede administrar antes de la aféresis de las células. En algunas divulgaciones, se administra ciclofosfamida al sujeto antes de la administración (por ejemplo, infusión o reinfusión) de las células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR o antes de la aféresis de las células. En algunas divulgaciones, se administran ciclofosfamida y un anticuerpo anti-GITR al sujeto antes de la administración (por ejemplo, infusión o reinfusión) de las células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR o antes de la aféresis de las células.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que es un agonista de GITR. Los agonistas ilustrativos de GITR incluyen, por ejemplo, proteínas de fusión de GITR y anticuerpos anti-GITR (por ejemplo, anticuerpos bivalentes anti-GITR) tal como, por ejemplo, una proteína de fusión de GITR descrita en la Patente de los EE.UU. N.º 6.111.090, Patente Europea N.º 090505B1, Patente de los EE.UU. N.º 8.586.023, Publicaciones PCT N.º: WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR descrito, por ejemplo, en la Patente de los EE.UU. N.º 7.025.962, Patente Europea N.º 1947183B1, Patente de los EE.UU. N.º 7.812.135, Patente de los EE.UU. N.º 8.388.967, Patente de los EE.UU. N.º 8.591.886, Patente Europea N.º EP 1866339, Publicación PCT N.º WO 2011/028683, Publicación PCT N.º WO 2013/039954, Publicación PCT N.º WO2005/007190, Publicación PCT N.º WO 2007/133822, Publicación PCT N.º WO2005/055808, Publicación PCT N.º WO 99/40196, Publicación PCT N.º WO 2001/03720, Publicación PCT N.º WO99/20758, Publicación PCT N.º WO2006/083289, Publicación PCT N.º WO 2005/115451, Patente de los EE.UU. N.º 7.618.632, y Publicación PCT N.º WO 2011/051726. Un anticuerpo anti-GITR ilustrativo es TRX518.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, mejora la infiltración tumoral o la transmigración de las células administradas, por ejemplo, células que expresan CAR. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agente adicional estimula CD40, tal como CD40L, por ejemplo, CD40L humano recombinante. El grupo de diferenciación 40 (CD40) también es miembro de la superfamilia de TNFR. CD40 es una proteína coestimuladora que se encuentra en las células presentadoras de antígenos y media una amplia variedad de respuestas inmunitarias e inflamatorias. CD40 también se expresa en algunas neoplasias malignas, donde promueve la proliferación. Anticuerpos anti-CD40 ilustrativos son dacetuzumab (SGN-40), lucatumumab (Novartis, antagonista), SEA-CD40 (Seattle Genetics), y CP-870.893. En algunas divulgaciones, el agente adicional que potencia la infiltración tumoral incluye el inhibidor de la tirosina cinasa sunitni216zacytidinase y/o receptores de quimiocinas tales como CCR2, CCR4 y CCR7.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente inmunomodulador que es un análogo o derivado estructural o funcional de talidomida y/o un inhibidor de la ubiquitina ligasa E3. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador se une a cereblon (CRBN). En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador se une al complejo CRBN E3 ubiquitina-ligasa. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador se une a CRBN y al complejo CRBN E3 ubiquitina-ligasa. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador regula por incremento la expresión de proteínas o genes de CRBN. En algunas divulgaciones, CRBN es el adaptador de sustrato para la $CRL4^{CRBN}$ E3 ubiquitina ligasa y modula la especificidad de la enzima. En algunas divulgaciones, la unión a CRB o al complejo CRBN E3 ubiquitina-ligasa inhibe la actividad de la E3 ubiquitina ligasa. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador induce la ubiqutinación de KZF1 (Ikaros) y IKZF3 (Aiolos) y/o induce la degradación de IKZF1 (Ikaros) y IKZF3 (Aiolos). En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador induce la ubiquitinación de la caseína cinasa 1A1 (CK1α) por la $CRL4^{CRBN}$ E3 ubiquitina ligasa. En algunas divulgaciones, la ubiquitinación de CK1α da como resultado la degradación de CK1α.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un inhibidor del factor de transcripción Ikaros (IKZF1). En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador mejora la ubiquitinación de Ikaros. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador mejora la degradación de Ikaros. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador

regula por disminución la expresión de proteínas o genes de Ikaros. En algunas divulgaciones, la administración del agente inmunomodulador provoca una disminución de los niveles de proteína Ikaros.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un inhibidor del factor de transcripción Aiolos (IKZF3). En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador mejora la ubiquitinación de Aiolos. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador mejora la degradación de Aiolos. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador regula por disminución la expresión de proteínas o genes de Aiolos. En algunas divulgaciones, la administración del agente inmunomodulador provoca una disminución de los niveles de proteína Aiolos.

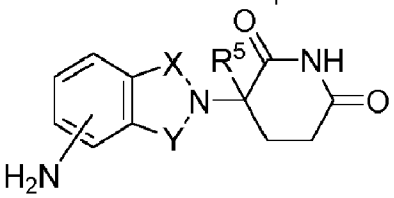
En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un inhibidor de ambos factores de transcripción Ikaros (IKZF1) y Aiolos (IKZF3). En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador mejora la ubiquitinación tanto de Ikaros como de Aiolos. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador mejora la degradación tanto de Ikaros como de Aiolos. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador mejora la ubiquitinación y degradación tanto de Ikaros como de Aiolos. En algunas divulgaciones, la administración del agente inmunomodulador hace que disminuyan tanto los niveles de proteína de Aiolos como los niveles de proteína de Ikaros.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un fármaco inhibidor selectivo de citocinas (SelCID). En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador inhibe la actividad de la fosfodiesterasa-4 (PDE4). En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador suprime la actividad enzimática de las CDC25 fosfatasas. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador altera el tráfico intracelular de las CDC25 fosfatasas.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es talidomida (2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1H-isoindol-1,3(2H)-diona) o un análogo o derivado de talidomida. En determinadas divulgaciones, un derivado de talidomida incluye variantes estructurales de talidomida que tienen una actividad biológica similar. Los derivados de talidomida a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a lenalidomida (REVLIMMUNOMODULATORY COMPOUND™; Celgene Corporation), pomalidomida (también conocido como ACTIMMUNOMODULATORY COMPOUND™ o POMALYST™ (Celgene Corporation)), CC-1088, CDC-501 y CDC- 801, y los compuestos divulgados en la Patentes de los EE.UU. N.º 5.712.291; 7.320.991; y 8.716.315; Solicitud de los EE.UU. N.º 2016/0313300; y Publicación PCT N.º WO 2002/068414 y WO 2008/154252.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador son 1-oxo- y 1,3 dioxo-2-(2,6-dioxopiperldin-3-il)isoindolinas sustituidas con amino en el anillo benzo como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º 5.635.517.

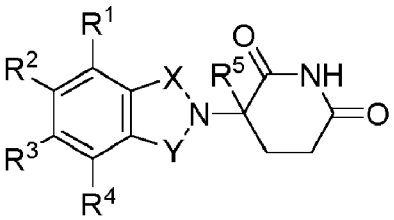
En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un compuesto de la siguiente fórmula:



en donde uno de X e Y es -C(O)- y el otro de X e Y es -C(O)- o -CH_2-, y R^5 es hidrógeno o alquilo inferior, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas divulgaciones, X es -C(O)- e Y es-CH_2-. En algunas divulgaciones, tanto X como Y son -C(O)-. En algunas divulgaciones, R^5 es hidrógeno. En otras divulgaciones, R^5 es metilo.

En algunas divulgaciones, el compuesto inmunomodulador es un compuesto que pertenece a una clase de compuestos 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)ftalinmunomoduladores sustituidos y 2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindoles sustituidos, tal coma aquellos descritos en la Patente de los EE.UU. N.º 6.281.230; 6.316.471; 6.335.349; y 6.476.052, y Solicitud de Patente Internacional No. PCT/US97/13375 (Publicación Internacional No. Documento WO 98/03502).

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un compuesto de la siguiente fórmula:



en donde

uno de X e Y es -C(O)- y el otro de X e Y es -C(O)- o -CH_2-;

(1) cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 son independientemente halo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o alcoxi o de 1 a 4 átomos de carbono o
(2) uno de R^1, R^3, R^4 y R^5 es -NHR^a y el resto de R^1, R^2, R^3 y R^4 son hidrógeno, en donde R^a es hidrógeno o alquilo de 1 a 8 átomos de carbono;

R^5 es hidrógeno o alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, bencilo o halo;

siempre que R^5 sea distinto de hidrógeno si X e Y son -C(O)- y (i) cada uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es fluoro; o (ii) uno de R^1, R^2, R^3 y R^4 es amino;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un compuesto que pertenece a una clase de compuestos inmunomoduladores de isoindol descritos en la Patente de los EE.UU. nº 7.091.353, Publicación de patente de los EE.UU. N.º 2003/0045552, y Solicitud Internacional N.º PCT/USOI/50401 (Publicación Internacional N.º WO02/059106). Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es [2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ilmetil]-amida; éster terc-butílico del ácido (2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ilmetil)-carbámico; 4-(aminometil)-2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-isoindolin-1,3-diona; N-(2-(2,6-dioxo-piperidin-3-il)-1,3-dioxo-2,3-dihidro-1H-isoindol-4-ilmetil)-acetamida; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil)-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}ciclopropilcarboxamida; 2-cloro-N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}acetamida; N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)-3-piridilcarboxamida; 3-{1-oxo-4-(bencilamino)isoindolin-2-il}piperidina-2,6-diona; 2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-4-(bencilamino)isoindolin-1,3-diona; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)meth218zacytidineide; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}-3-piridilcarboxamida; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}heptanamida; N-{(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)metil}-2-furilcarboxamida; acetato de {N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)carbamoil}metilo; N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)pentanamida; N-(2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il)-2-tienilcarboxamida; N-{[2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il]metil}(butilamino)carboxamida; N-{[2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il]metil}(octilamino)carboxamida; o N-{[2-(2,6-dioxo(3-piperidil))-1,3-dioxoisoindolin-4-il]metil}(bencilamino)carboxamida.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es un compuesto que pertenece a una clase de compuestos inmunomoduladores de isoindol descritos en las Publicaciones de solicitudes de patente de EE. UU. N.º 2002/0045643, Publicación Internacional N.º WO 98/54170y la Patente de los EE.UU. N.º 6.395.754. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es una 2-(2,6-dioxopiperdin-3-il)-1-oxoisoindolina tetrasustituida descrita en la Patente de los EE.UU. N.º 5.798.368. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador son 1-oxo y 1,3-dioxo-2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)isoindolinas descritas en la Patente de los EE.UU. N.º 6.403.613. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es una 1-oxo o 1,3-dioxoisoindolina sustituida en la posición 4 o 5 del anillo de indolina como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º 6.380.239 y la Patente de los EE.UU. N.º 7.244.759.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es ácido 2-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-4-carbamoil-butírico o ácido 4-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-4-carbamoil-butírico. En algunas divulgaciones, el compuesto inmunomodulador es ácido 4-carbamoil-4-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il}-butírico, ácido 4-carbamoil-2-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il}-butírico, ácido 2-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il}-4-fenilcarbamoil-butírico o ácido 2-{4-[(furan-2-il-metil)-amino]-1,3-dioxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il}-pentanodioico.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es una isoindolin-1-ona o isoindolin-1,3-diona sustituida en la posición 2 con 2,6-dioxo-3-hidroxipiperidin-5-ilo como se describe en la Patente de los EE.UU. N.º 6.458.810. En algunas divulgaciones, el compuesto inmunomodulador es 3-(5-amino-2-metil-4-oxo-4H-quinazolin-3-il)-piperidin-2,6-diona o un enantiómero o una mezcla de enantiómeros de la misma; o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato o polimorfo de la misma. En algunas divulgaciones, el compuesto inmunomodulador es 3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es como se describe en Oshima, K. *et al.*, Nihon Rinsho., 72(6):1130-5 (2014); Millrine, D. et al., Trends MolMed., 23(4):348-364 (2017); y Collins, et al., Biochem J., 474(7): 1127-1147 (2017).

En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador es lenalidomida, pomalidomida, avadomida, un estereoisómero de lenalidomida, pomalidomida, avadomida o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato o polimorfo de la misma. En algunas divulgaciones, el compuesto inmunomodulador es lenalidomida, un estereoisómero de lenalidomida o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, co-cristal, clatrato o polimorfo de la misma. En algunas divulgaciones, el compuesto inmunomodulador es lenalidomida o ((RS)-

3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidina-2,6-diona).

En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye fármacos de talidomida o análogos de la misma y/o derivados de la misma, como lenalidomida, pomalidomida o apremilast. Véase, por ejemplo, Bertilaccio et al., Blood (2013) 122:4171, Otahal et al., Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940; Fecteau et al., Blood (2014) 124(10): 1637-1644 y Kuramitsu et al., Cancer Gene Therapy (2015) 22:487-495). Lenalidomida ((RS)-3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)piperidin-2,6-diona; también conocido como Revlimid) es un derivado sintético de la talidomida y tiene múltiples efectos inmunomoduladores, incluida la aplicación de la formación de sinapsis inmunitaria entre los linfocitos T y las células presentadoras de antígeno (APC). Por ejemplo, en algunos casos, lenalidomida modula las respuestas de linfocitos T y produce un aumento de la producción de interleucina (IL)-2 en linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$, induce el cambio de las respuestas de linfocitos T auxiliares (Th) de Th2 a Th1, inhibe la expansión del subconjunto regulador de los linfocitos T (Treg) y mejora el funcionamiento de las sinapsis inmunológicas en el linfoma folicular y la leucemia linfocítica crónica (LLC) (Otahal et al., Oncoimmunology (2016) 5(4):e1115940). Lenalidomida también tiene actividad tumoricida directa en pacientes con mieloma múltiple (MM) y modula directa e indirectamente la supervivencia de las células tumorales de LLC al afectar las células de soporte, como las células similares a Sertoli que se encuentran en el microentorno de los tejidos linfoides. Lenalidomida también puede mejorar la proliferación de linfocitos T y la producción de interferón-γ en respuesta a la activación de linfocitos T mediante unión a CD3 o activación mediada por células dendríticas. Lenalidomida también puede inducir que las células B malignas expresen niveles más altos de moléculas inmunoestimuladoras como CD80, CD86, HLA-DR, CD95 y CD40 (Fecteau et al., Blood (2014) 124(10):1637-1644). En algunas divulgaciones, lenalidomida se administra en una dosis de desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 20 mg al día, por ejemplo, desde aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 10 mg, desde aproximadamente 2,5 mg hasta aproximadamente 7,5 mg, desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 15 mg, tal como aproximadamente 5 mg, 10 mg, 15 mg o 20 mg al día. En algunas divulgaciones, lenalidomida se administra en una dosis de desde aproximadamente 10 µg/kg hasta 5 mg/kg, por ejemplo, de aproximadamente 100 µg/kg a aproximadamente 2 mg/kg, de aproximadamente 200 µg/kg a aproximadamente 1 mg/kg, de aproximadamente 400 µg/kg a aproximadamente 600 µg/kg, tal como aproximadamente 500 µg/kg.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un inhibidor de linfocitos B. En algunas divulgaciones, el agente adicional es uno o más inhibidores de linfocitos B seleccionados entre inhibidores de CD 10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 o ROR1, o una combinación de los mismos. En algunas divulgaciones, el inhibidor de linfocitos B es un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo mono o biespecífico) o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas divulgaciones, el agente adicional es una célula modificada por ingeniería genética que expresa receptores recombinantes que se dirigen a linfocitos B diana, por ejemplo, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD123, CD79a, CD79b, CD179b, FLT-3 o ROR1.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un inhibibdor de CD20, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD20 (por ejemplo, un anticuerpo mono- o biespecífico anti-CD20) o un fragmento del mismo. Anticuerpos anti-CD20 a modo de ejemplo incluyen pero no se limitan a rituximab, ofatumumab, ocrelizumab (también conocido como GA101 o RO5072759), veltuzumab, TRU-015 (Trubion Pharmaceuticals), ocaratuzumab (también conocido como AME-133v o ocaratuzumab) y Pro131921 (Genentech). Véase, por ejemplo, Lim et al. Haematologica. (2010) 95(1): 135-43. En algunas divulgaciones, el anticuerpo anti-CD20 comprende rituximab. Rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico de ratón/humano de IgG1 kappa que se une a CD20 y provoca la citólisis de una célula que expresa CD20. En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye rituximab. En algunas divulgaciones, el inhibidor de CD20 es una molécula pequeña.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un inhibibdor de CD22, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD22 (por ejemplo, un anticuerpo mono- o biespecífico anti-CD22) o un fragmento del mismo. Anticuerpos anti-CD22 a modo de ejemplo incluye epratuzumab y RFB4. En algunas divulgaciones, el inhibidor de CD22 es una molécula pequeña. En algunas divulgaciones, el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico, opcionalmente conjugado con un segundo agente tal como un agente quimioterápico. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el anticuerpo es un conjugado MMAE-anticuerpo monoclonal anti-CD22 (por ejemplo, DCDT2980S). En algunas divulgaciones, el anticuerpo es un scFv de un anticuerpo anti-CD22, por ejemplo, un scFv de anticuerpo RFB4. En algunas divulgaciones, el scFv se fusiona con la totalidad o un fragmento de la exotoxina-A de Pseudomonas (por ejemplo, BL22). En algunas divulgaciones, el scFv se fusiona con la totalidad o un fragmento de (por ejemplo, un fragmento de 38 kDa de) exotoxina-A de Pseudomonas (por ejemplo, moxetumomab pasudotox). En algunas divulgaciones, el anticuerpo anti-CD22 es un anticuerpo biespecífico anti-CD19/CD22, opcionalmente conjugado con una toxina. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el anticuerpo anti-CD22 comprende una porción biespecífica anti-CD19/CD22, (por ejemplo, dos ligandos scFv, que reconocen CD19 y CD22 humanos) opcionalmente unidos a toda o una porción de la toxina diftérica (DT), por ejemplo, primeros 389 aminoácidos de la toxina diftérica (DT), DT 390, por ejemplo, una toxina dirigida por ligando como DT2219ARL). En algunas divulgaciones, la porción biespecífica (p. ej., anti-CD 19/anti-CD22) está unida a una toxina tal como la cadena A de ricina desglicosilada (p. ej., Combotox).

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es una citocina o es un agente que induce un aumento de expresión de una citocina en el microentorno tumoral. Las citocinas tienen funciones importantes relacionadas con la expansión, diferenciación, supervivencia y homeostasis de los linfocitos T. Las citocinas que pueden administrar al sujeto que recibe la terapia combinada en los métodos divulgados o usos, receptores recombinantes, células y/o composiciones divulgadas en el presente documento incluyen una o más de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-18 y IL-21. En algunas divulgaciones, la citocina administrada es IL-7, IL-15 o IL-21, o una combinación de los mismos. En algunas divulgaciones, la administración de la citocina al sujeto que tiene una respuesta subóptima a la administración de las células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR, mejoran la eficacia y/o la actividad antitumoral de las células administradas, por ejemplo, células que expresan CAR.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es una citocina, tal como una proteína que actúa sobre otra célula como mediadores intercelulares. Ejemplos de dichas citocinas son linfocinas, monocinas y hormonas polipeptídicas tradicionales. Entre las citocinas se incluyen hormonas del crecimiento, tal como la hormona de crecimiento humana, la hormona de crecimiento humana con N-metionilo y la hormona de crecimiento bovina; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorrelaxina; hormonas glucoproteicas, tales como la hormona folículo estimulante (FSH, del inglés "follicle stimulating hormone"), hormona estimulante de la tiroides (TSH, del inglés "thyroid stimulating hormone") y hormona luteinizante (LH, del inglés "luteinizing hormone"); factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; prolactina; lactógeno placentario; factor de necrosis tumoral alfa y beta; sustancia inhibidora mulleriana; péptido asociado a gonadotropina de ratón; inhibina; activina; factor de crecimiento endotelial vascular; integrina; trombopoyetina (TPO); factores de crecimiento nervioso tales como NGF-beta; factor de crecimiento procedente de plaquetas; factores de crecimiento transformantes (TGF, del inglés "transforming growth factors") tales como TGF-alfa y TGF-beta; factor de crecimiento similar a la insulina I y II; eritropoyetina (EPO); factores osteoinductivos; interferones tales como el interferón alfa, beta y gamma; factores estimulantes de colonias (CSF, del inglés "colony stimulating factors"), tales como CSF de macrófagos (M-CSF); CSF de granulocitos-macrófagos (GM-CSF); y granulocito-CSF (G-CSF); interleucinas (IL) tales como IL-1, IL-alfa, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12; IL-15, un factor de necrosis tumoral tal como TNF-alfa o TNF-beta; y otros factores polipeptídicos que incluyen LIF y ligando kit (KL, del inglés "kit ligand"). Como se usa en el presente documento, el término citocina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo de células recombinantes y equivalentes biológicamente activos de las citocinas de secuencia natural. Por ejemplo, el agente inmunomodulador es una citocina y la citocina es IL-4, TNF-α, GM-CSF o IL-2.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, incluye un polipéptido de interleucina-15 (IL-15), un polipéptido del receptor alfa de interleucina-15 (IL-15Rα), o una combinación de los mismos, por ejemplo, hetIL-15 (Admune Therapeutics, LLC). hetIL-15 es un complejo heterodimérico no covalente de IL-15 e IL-15Rα. hetIL-15 se describe en, por ejemplo, los documentosU.S. 8.124.084, U.S. 2012/0177598, U.S. 2009/0082299, U.S. 2012/0141413y U.S. 2011/0081311. En algunas divulgaciones, el agente inmunomodulador puede contener un o más citocinas. Por ejemplo, la interleucina puede incluir inyección de interleucina leucocitaria (Multikine), que es una combinación de citocinas naturales.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un modulador de los niveles de adenosina y/o un componente de la vía de adenosina. La adenosina puede funcionar como un agente inmunomodulador en el cuerpo. Por ejemplo, la adenosina y algunos análogos de adenosina que activan de forma no selectiva los subtipos de receptores de adenosina disminuyen la producción de neutrófilos de productos oxidativos inflamatorios (Cronstein et al., Ann. N.Y. Acad. Sci. 451:291, 1985; Roberts et al., Biochem. J., 227:669, 1985; Schrier et al., *J. Immunol.* 137:3284, 1986; Cronstein et al., Clinical Immunol. Immunopath. 42:76, 1987). En algunos casos, la concentración de adenosina extracelular o análogos de adenosina puede aumentar en entornos específicos, por ejemplo, microentorno tumoral (TME). En algunos casos, la señalización de adenosina o análogos de adenosina depende de la hipoxia o de factores implicados en la hipoxia o su regulación, por ejemplo, factor inducible por hipoxia (HIF). En algunas divulgaciones, el aumento de la señalización de adenosina puede aumentar el AMPc intracelular y la proteína cinasa dependiente de AMPc, lo que da como resultado la inhibición de la producción de citocinas proinflamatorias y puede conducir a la síntesis de moléculas inmunosupresoras y al desarrollo de Treg (Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605). En algunas divulgaciones, el agente adicional puede reducir o revertir los efectos inmunosupresores de la adenosina, análogos de adenosina y/o señalización de adenosina. En algunas divulgaciones, el agente adicional puede reducir o revertir la inmunosupresión de linfocitos T adenosinérgicos A2 provocada por hipoxia. En algunas divulgaciones, el agente adicional se selecciona entre antagonistas de los receptores de adenosina, agentes degradantes de adenosina extracelulares, inhibidores de la generación de adenosina por las ectoenzimas CD39/CD73 e inhibidores de la señalización de hipoxia-HIF-1α. En algunas divulgaciones, el agente adicional es un antagonista o agonista del receptor de adenosina.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o

con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que inhibe la actividad y/o una cantidad de un receptor de adenosina. Las divulgaciones particulares contemplan que la inhibición o reducción de la adenosina extracelular o del receptor de adenosina en virtud de un inhibidor de la adenosina extracelular (tal como un agente que previene la formación de, degrada, inactiva y/o disminuye la adenosina extracelular), y/o un inhibidor del receptor de adenosina (como un antagonista del receptor de adenosina) puede mejorar la respuesta inmunitaria, tal como un macrófago, neutrófilos, granulocito, célula dendrítica, respuesta mediada por linfocitos T y/o B. Además, inhibidores de la vía intracelular dependiente de AMPc mediada por la proteína Gs e inhibidores de las vías intracelulares mediadas por la proteína Gi activadas por el receptor de adenosina, también puede aumentar la inflamación aguda y crónica.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un antagonista o agonista del receptor de adenosina, por ejemplo, un antagonista o agonista de uno o más de los receptores de adenosina A2a, A2b, A1 y A3. A1 y A3 inhiben, y A2a y A2b estimulan, respectivamente, la actividad adenilato ciclasa. Determinados receptores de adenosina, tales como A2a, A2b y A3, pueden suprimir o reducir la respuesta inmunitaria durante la inflamación. Por lo tanto, antagonizar los receptores de adenosina inmunosupresores puede aumentar, reforzar o potenciar la respuesta inmunitaria, por ejemplo, respuesta inmunitaria de las células administradas, por ejemplo, linfocitos T que expresan CAR. En algunas divulgaciones, el agente adicional inhibe la producción de adenosina extracelular y la señalización activada por adenosina a través de receptores de adenosina. Por ejemplo, la mejora de la respuesta inmunitaria, la inflamación del tejido local y la destrucción del tejido dirigido se pueden mejorar inhibiendo o reduciendo la hipoxia tisular local productora de adenosina; degradando (o inactivando) la adenosina extracelular acumulada; previniendo o disminuyendo la expresión de receptores de adenosina en las células inmunitarias; y/o inhibiendo/antagonizando la señalización por ligandos de adenosina a través de receptores de adenosina.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un antagonista del receptor de adenosina. En algunas divulgaciones, el antagonista es una pequeña molécula o un compuesto químico de un receptor de adenosina, tal como el receptor de A2a, A2b o A3. En algunas divulgaciones, el antagonista es un péptido, o un pepidomimético, que se une al receptor de adenosina pero no desencadena una vía intracelular dependiente de la proteína Gi. Ejemplos de tales antagonistas se describen en la Patente de los EE.UU. N.º 5.565.566; 5.545.627, 5.981.524; 5.861.405; 6.066.642; 6.326.390; 5.670.501; 6.117.998; 6.232.297; 5.786.360; 5.424.297; 6.313.131, 5.504.090; y 6.322.771.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un antagonista del receptor de A2 (A2R), tal como un antagonista de A2a. Los antagonistas de A2R a modo de ejemplo incluyen, pero sin limitación, KW6002 (istradefilina), SCH58261, cafeína, paraxantina, 3,7-dimetil-1-propargilxantina (DMPX), 8-(m-cloroestiril) cafeína (CSC), MSX-2, MSX-3, MSX-4, CGS-15943, ZM-241385, SCH-442416, preladenant, vipadenant (BII014), V2006, ST-1535, SYN-115, PSB-1115, ZM241365, FSPTP y un ácido nucleico inhibidor que se dirige a la expresión de A2R, por ejemplo, ARNip o ARNhc, o cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de los mismos que se dirija a un A2R. En algunas divulgaciones, el agente adicional es un antagonista de A2R descrito en, por ejemplo, Ohta et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103:13132-13137; Jin et al., Cancer Res. (2010) 70(6):2245-2255; Leone et al., Computational and Structural Biotechnology Journal (2015) 13:265-272; Beavis et al., Proc Natl Acad Sci USA (2013) 110:14711-14716; y Pinna, A., Expert Opin Investig Drugs (2009) 18:1619-1631; Sitkovsky et al., Cancer Immunol Res (2014) 2(7):598-605; documento US 8.080.554; documento US 8.716.301; documento US 20140056922; documento WO2008/147482; documento US 8.883.500; documento US 20140377240; documento WO02/055083; documento US 7.141.575; documento US 7.405.219; documento US 8.883.500; documento US 8.450.329 y/o documento US 8.987.279.

En divulgaciones particulares, un antagonista del receptor de adenosina que es una molécula antisentido, molécula de ácido nucleico inhibidora (por ejemplo, ARN inhibidor pequeño (ARNip)) o molécula de ácido nucleico catalítico (por ejemplo, una ribozima) que se une específicamente al ARNm que codifica un receptor de adenosina. En algunas divulgaciones, la molécula antisentido, la molécula de ácido nucleico inhibidora o la molécula de ácido nucleico catalítica se unen a los ácidos nucleicos que codifican A2a, A2b o A3. En algunas divulgaciones, una molécula antisentido, la molécula de ácido nucleico inhibidora o el ácido nucleico catalítico se dirigen a las vías bioquímicas hacia 3' del receptor de adenosina. Por ejemplo, la molécula antisentido o el ácido nucleico catalítico puede inhibir una enzima implicada en la vía intracelular dependiente de la proteína Gs o la proteína Gi. En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye la forma mutante negativa dominante de un receptor de adenosina, tales como A2a, A2b o A3.

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente que inhibe la adenosina extracelular. Los agentes que inhiben la adenosina extracelular incluyen agentes que hacen que la adenosina extracelular no sea funcional (o disminuyen dicha función), tal como una sustancia que modifica la estructura de la adenosina para inhibir la capacidad de la adenosina de enviar señales a través de los receptores de adenosina. En algunas divulgaciones, el agente adicional es una enzima extracelular generadora o degradante de adenosina, una forma modificada de la misma o un modulador de la misma. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agente adicional es

una enzima (por ejemplo, adenosina desaminasa) u otra molécula catalítica que se une selectivamente y destruye la adenosina, aboliendo o disminuyendo así significativamente la capacidad de la adenosina formada endógenamente para enviar señales a través de receptores de adenosina y terminar la inflamación.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es una adenosina desaminasa (ADA) o una forma modificada de la misma, por ejemplo, ADA recombinante y/o ADA modificada con polietilenglicol (ADA-PEG), que puede inhibir la acumulación tisular local de adenosina extracelular. ADA-PEG se ha utilizado en el tratamiento de pacientes con ADA SCID (Hershfield (1995) Hum mutat. 5: 107). En algunas divulgaciones, un agente que inhibe la adenosina extracelular incluye agentes que previenen o disminuyen la formación de adenosina extracelular y/o previenen o disminuyen la acumulación de adenosina extracelular, eliminando, o reduciendo sustancialmente, de ese modo, los efectos inmunosupresores de la adenosina. En algunas divulgaciones, el agente adicional inhibe específicamente enzimas y proteínas que participan en la regulación de la síntesis y/o secreción de moléculas proinflamatorias, incluidos moduladores de factores de transcripción nuclear. La supresión de la expresión del receptor de adenosina o de la expresión de la vía intracelular dependiente de la proteína Gs o de la proteína Gi, o de la vía intracelular dependiente de AMPc, puede dar como resultado un aumento/mejora de la respuesta inmunitaria.

En algunas divulgaciones, el agente adicional puede dirigirse a ectoenzimas que generan o producen adenosina extracelular. En algunas divulgaciones, el agente adicional se dirige a las ectoenzimas CD39 y CD73, que funcionan en conjunto para generar adenosina extracelular. CD39 (también llamado ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa) convierte el ATP (o ADP) extracelular en 5'AMP. Por consiguiente, CD73 (también llamado 5'nucleotidasa) convierte 5'AMP en adenosina. La actividad de CD39 es reversible por las acciones de la NDP cinasa y la adenilato cinasa, mientras que la actividad de CD73 es irreversible. CD39 y CD73 se expresan en células estromales tumorales, incluidas las células endoteliales y Treg, y también en muchas células de cáncer. Por ejemplo, la expresión de CD39 y CD73 en las células endoteliales aumenta en las condiciones hipóxicas del microentorno tumoral. La hipoxia tumoral puede deberse a un suministro sanguíneo inadecuado y a una vasculatura tumoral desorganizada, perjudicando el suministro de oxígeno (Carroll y Ashcroft (2005), Expert. Rev. Mol. Med. 7(6): 1-16). La hipoxia también inhibe la adenilato cinasa (AK), que convierte la adenosina en AMP, lo que lleva a una concentración extracelular de adenosina muy alta. Por lo tanto, la adenosina se libera en altas concentraciones en respuesta a la hipoxia, que es un estado que ocurre con frecuencia en el microentonro tumoral (TME), en o alrededor de tumores sólidos. En algunas divulgaciones, el agente adicional es uno o más de anticuerpo anti-CD39 o fragmento de unión a antígeno del mismo, anticuerpo anti-CD73 o fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, MEDI9447 o TY/23, α-β-metilen-adenosina difosfato (ADP), ARL 67156, POM-3, IPH52 (véase, por ejemplo, Allard et al. Clin Cancer Res (2013) 19(20):5626-5635; Hausler et al., Am J Transl Res (2014) 6(2): 129-139; Zhang, B., Cancer Res. (2010) 70(16):6407-6411).

En algunas divulgaciones, el agente adicional que se administra de acuerdo con los métodos que se divulgan y/o con los artículos de fabricación o composiciones que se divulgan, es un agente quimioterápico (a veces denominado agente citotóxico). En divulgaciones particulares, el agente quimioterápico es cualquier agente que se sabe que es eficaz para el tratamiento, prevención o mejora de trastornos hiperproliferativos tal como cáncer. Los agentes quimioterápicos incluyen, pero sin limitación, moléculas pequeñas, fármacos sintéticos, péptidos, polipéptidos, proteínas, ácidos nucleicos (por ejemplo, polinucleótidos de ADN y ARN que incluyen, pero sin limitación, secuencias nucleotídicas antisentido, triples hélices y moléculas de nucleótidos que codifican proteínas, polipéptidos o péptidos activos biológicamente), anticuerpos, moléculas inorgánicas sintéticas o naturales, agentes miméticos y moléculas orgánicas sintéticas o naturales. En divulgaciones particulares, los fármacos quimioterápicos incluyen agentes alquilantes, antraciclinas, disruptores citoesqueléticos (taxanos), epotilonas, inhibidores de histona desacetilasa, inhibidores de topoisomerasas, inhibidores de topoisomerasa II, inhibidores de cinasas, análogos de nucleótidos y análogos de precursores, antibióticos peptídicos, agentes a base de platino y alcaloides de la vinca y derivados.

Los agentes quimioterápicos pueden incluir, pero sin limitación, abarelix, aldesleucina, alemtuzumab, alitretinoína, alopurinol, altretamina, amifostina, anastrozol, trióxido de arsénico, asparaginasa, BCG vivo, bevaceizumab, bexaroteno, bleomicina, bortezomib, busulfán, calusterona, camptotecina, capecitabina, carboplatino, carmustina, celecoxib, cetuximab, clorambucilo, cinacalcet, cisplatino, cladribina, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, darbepoetina alfa, daunorrubicina, denileucina diftitox, dexrazoxano, docetaxel, doxorrubicina, dromostanolona, solución B de Elliott, epirubicina, epoetina alfa, estramustina, etopósido, exemestano, filgrastim, floxuridina, fludarabina, fluorouracilo, fulvestrant, gemcitabina, gemtuzumab ozogamicina, gefitinib, goserelina, hidroxiurea, ibritumomab tiuxetano, idarrubicina, ifosfamida, imatinib, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, irinotecán, letrozol, leucovorina, levamisol, lomustina, mecloretamina, megestrol, melfalán, mercaptopurina, mesna, metotrexato, metoxsalen, metilprednisolona, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, nandrolona, nofetumomab, oblimersén, oprelvekina, oxaliplatino, paclitaxel, pamidronato, pegademasa, pegaspargasa, pegfilgrastim, pemetrexed, pentostatina, pipobromano, plicamicina, polifeprosano, porfímero, procarbazina, quinacrina, rasburicasa, rituximab, sargramostim, estreptozocina, talco, tamoxifeno, tarceva, temozolomida, tenipósido, testolactona, tioguanina, tiotepa, topotecán, toremifeno, tositumomab, trastuzumab, tretinoína, mostaza de uracilo, valrrubicina, vinblastina, vincristina, vinorelbina y zoledronato.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un inhibidor de la señalización del factor 1 alfa inducible por hipoxia

(HIF-1α). Los inhibidores de HIF-1α a modo de ejemplo incluyen digoxina, acriflavina, sirtuin-7 y ganetespib.

En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye un inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa, por ejemplo, un inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa descrito en el presente documento. En algunas divulgaciones, el inhibidor de proteína tirosina fosfatasa es un inhibidor de SHP-1, por ejemplo, un inhibidor de SHP-1 descrito en el presente documento, tal como, por ejemplo, estibogluconato de sodio. En algunas divulgaciones, el inhibidor de proteína tirosina fosfatasa es un inhibidor de SHP-2, por ejemplo, un inhibidor de SHP-2 descrito en el presente documento.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un inhibidor de cinasas. Los inhibidores de cinasas, tal como un inhibidor de CDK4 cinasa, un inhibidor de BTK cinasa, un inhibidor de MNK cinasa o un inhibidor de DGK cinasa, pueden regular las vías de supervivencia constitutivamente activas que existen en las células tumorales y/o modular la función de las células inmunitarias. En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de la tirosina cinasa de Bruton (BTK), por ejemplo, ibrutinib. En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de la fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 3-cinasa (PI3K). En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de CDK4, por ejemplo, un inhibidor de CDK4/6. En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de mTOR, tal como, por ejemplo, rapamicina, un análogo de rapamicina, OSI-027. El inhibidor de mTOR puede ser, por ejemplo, un inhibidor de mTORC1 y/o un inhibidor de mTORC2, por ejemplo, un inhibidor de mTORC1 y/o un inhibidor de mTORC2. En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de MNK o un inhibidor dual de PI3K/mTOR. En algunas divulgaciones, otros inhibidores de cinasas a modo de ejemplo incluyen el inhibidor de AKT perifosina, el inhibidor de mTOR temsirolimus, los inhibidores de la cinasa Src dasatinib y fostamatinib, los inhibidores de JAK2 pacritinib y ruxolitinib, los inhibidores de PKCβ enzastaurina y briostatina, y el inhibidor de AAK alisertib.

En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de BTK seleccionado de ibrutinib (PCI-32765); GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; y documento LFM-A13. En algunas divulgaciones, el inhibidor de BTK no reduce ni inhibe la actividad cinasa de la cinasa inducible por interleucina-2 (ITK) y se selecciona de GDC-0834; RN-486; CGI-560; CGI-1764; HM-71224; CC-292; ONO-4059; CNX-774; y documento LFM-A13.

En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de BTK, por ejemplo, ibrutinib (1-[(3R)-3-[4-amino-3-(4-fenoxifenil)-1H-pirazolo [3,4-d]pirimidin-1-il]piperidin-1-il]prop-2-en-1-ona; también conocido como PCI-32765). En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de BTK, por ejemplo, ibrutinib (PCI-32765), y el ibrutinib se administra en una dosis de aproximadamente 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 420 mg, 440 mg, 460 mg, 480 mg, 500 mg, 520 mg, 540 mg, 560 mg, 580 mg, 600 mg (p. ej., 250 mg, 420 mg o 560 mg) al día durante un período de tiempo, por ejemplo, diariamente durante un ciclo de 21 días, o diariamente durante un ciclo de 28 días. En algunas divulgaciones, se administran 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más ciclos de ibrutinib. En algunas divulgaciones, el inhibidor de BTK es un inhibidor de BTK descrito en la Solicitud Internacional WO 2015/079417.

En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de PI3K. PI3K es fundamental para la vía PI3K/Akt/mTOR implicada en la regulación del ciclo celular y la supervivencia del linfoma. El inhibidor de PI3K a modo de ejemplo incluye idelalisib (inhibidor de PI3Kδ). En algunas divulgaciones, el agente adicional es idelalisib y rituximab.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un inhibidor de la diana de rapamicina en los mamíferos (mTOR). En algunas divulgaciones, el inhibidor de cinasas es un inhibidor de mTOR seleccionado entre temsirolimus; ridaforolimus (también conocido como AP23573 y MK8669); everolimus (RAD001); rapamicina (AY22989); simapimod; AZD8055; PF04691502; SF1126; y documento XL765. En algunas divulgaciones, el agente adicional es un inhibidor de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), tal como vemurafenib, dabrafenib y trametinib.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un agente que regula proteínas pro- o antiapoptóticas. En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye un inhibidor del linfoma 2 de linfocitos B (BCL-2) (p. ej., venetoclax, también denominado ABT-199 o GDC-0199; o ABT-737). Venetoclax es una molécula pequeña (4-(4-{[2-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-1-ciclohexen-1-il]metil}-1-piperazinil)-N-({3-nitro-4-[(tetrahidro-2H-piran-4-ilmetil)amino]fenil}sulfonil)-2-(1H-pirrolo[2,3-b]piridin-5-iloxi)benzamida) que inhibe la proteína anti-apoptótica, BCL-2. Otros agentes que modulan la proteína pro- o antiapoptótica incluyen el inhibidor de BCL-2 ABT-737, navitoclax (ABT-263); ARNip de Mcl-1 o inhibidor de Mcl-1 retinoide N-(4-hidroxifenil) retinamida (4-HPR) para una máxima eficacia. En algunas divulgaciones, el agente adicional proporciona estímulos proapoptóticos, tal como ligando que induce apoptosis (TRAIL) relacionada con factor de necrosis tumoral recombinante (TRAIL), que puede activar la vía de la apoptosis uniéndose a los receptores de muerte TRAIL DR-4 y DR-5 en la superficie de las células tumorales, o anticuerpos agonistas de TRAIL-R2.

En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye un agente citotóxico, por ejemplo, CPX-351 (Celator Pharmaceuticals), citarabina, daunorrubicina, vosaroxina (Sunesis Pharmaceuticals), sapacitabina (Cyclacel Pharmaceuticals), idarubicina o mitoxantrona. En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye un agente hipometilante, por ejemplo, un inhibidor de ADN metiltransferasa, por ejemplo azacitidina o decitabina.

En otra divulgación, el agente adicional es un trasplante, por ejemplo, trasplante de células madre alogénico.

En algunas divulgaciones, la terapia adicional es una terapia de reducción de linfocitos. En algunas divulgaciones, la reducción de linfocitos se realiza en un sujeto, por ejemplo, antes de administrar células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR. En algunas divulgaciones, la reducción de linfocitos comprende administrar uno o más de melfalán, citoxano, ciclofosfamida y fludarabina. En algunas divulgaciones, una quimioterapia con reducción de linfocitos se administra al sujeto antes de, simultáneamente con o después de la administración (por ejemplo, infusión) de células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR. En una divulgación, la quimioterapia con reducción de linfocitos se administra al sujeto antes de la administración de células modificadas por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR.

En algunas divulgaciones, el agente adicional es un virus oncolítico. En algunas divulgaciones, los virus oncolíticos son capaces de replicarse selectivamente y provocar la muerte o ralentizar el crecimiento de una célula cancerosa. En algunos casos, los virus oncolíticos no tienen efecto o un efecto mínimo sobre células no cancerosas. Un virus oncolítico incluye, entre otros, un adenovirus oncolítico, virus del herpes simple oncolítico, retrovirus oncolítico, parvovirus oncolítico, virus vaccinia oncolítico, virus Sinbis oncolítico, virus de la influenza oncolítico o virus de ARN oncolítico (p. ej., reovirus oncolítico, virus de la enfermedad de Newcastle oncolítico (NDV), virus oncolítico del sarampión o virus de la estomatitis vesicular oncolítico (VSV)).

Otra terapia combinada, tratamiento y/o agentes a modo de ejemplo incluyen agentes antialérgicos, antieméticos, analgésicos y terapias complementarias. En algunas divulgaciones, el agente adicional incluye agentes citoprotectores, tal como neuroprotectores, agentes neutralizantes de radicales libres, cardioprotectores, neutralizadores y nutrientes de la extravasación de antraciclinas.

En algunas divulgaciones, un anticuerpo usado como agente adicional se conjuga o se une de otro modo a un agente terapéutico, por ejemplo, un agente antineoplásico (por ejemplo, citoxano, fludarabina, un inhibidor de la histona desacetilasa, agente desmetilante, vacuna peptídica, antibiótico antitumoral, inhibidor de tirosina cinasa, agentes alquilantes, agente anti-microtúbulo o anti-mitótico), agente anti-alérgico, agente anti-náuseas (o antiemético), analgésico o agente citoprotector descrito en el presente documento. En algunas divulgaciones, el agente adicional es un conjugado anticuerpo-fármaco.

Cualquiera de los agentes adicionales descritos en el presente documento se puede preparar y administrar como una terapia combinada descrita en los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones divulgados, tal como en composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes de l terapia combinada y un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como cualquiera que se describe en el presente documento. En algunas divulgaciones, la terapia combinada en los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones divulgados puede administrarse simultáneamente, de manera concurrente o secuencialmente, en cualquier orden con los agentes adicionales, terapia o tratamiento, en donde tal administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de cada uno de los agentes en el organismo del sujeto. En algunas divulgaciones, el agente adicional se puede coadministrar con la terapia combinada en los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones divulgados, por ejemplo, como parte de la misma composición farmacéutica o utilizando el mismo método de administración. En algunas divulgaciones, el agente adicional se administra simultáneamente con la terapia celular, por ejemplo, una dosis de linfocitos T modificados por ingeniería genética (por ejemplo, linfocitos T CAR^+), pero en composiciones separadas. En algunas divulgaciones, el agente adicional se incuba con la célula modificada por ingeniería genética, por ejemplo, células que expresan CAR, antes de la administración de la células.

En algunas divulgaciones, el uno o más agentes adicionales se administran después o antes de la administración de la terapia celular, por ejemplo, una dosis de linfocitos T modificados por ingeniería genética (por ejemplo, linfocitos T CAR^+), separados por un período de tiempo seleccionado. En algunas divulgaciones, el período de tiempo es de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses o 3 meses. En algunas divulgaciones, el uno o más agentes adicionales se administran múltiples veces. En algunas divulgaciones, el agente adicional se administra antes de la terapia celular, por ejemplo, dosis de linfocitos T modificados por ingeniería genética (linfocitos T CAR^+) en los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones divulgados, por ejemplo, dos semanas, 12 días, 10 días, 8 días, una semana, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día antes de la administración. En algunas divulgaciones, el agente adicional se administra después de la terapia celular, por ejemplo, dosis de linfocitos T modificados por ingeniería genética (p. Ej., linfocitos T CAR^+) en los métodos, usos, artículos de fabricación o composiciones divulgados, por ejemplo, dos semanas, 12 días, 10 días, 8 días, una semana, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día después de la administración.

La dosis del agente adicional puede ser cualquier cantidad terapéuticamente eficaz, por ejemplo, cualquier cantidad de dosis descrita en el presente documento, y la dosis apropiada del agente adicional puede depender del tipo de enfermedad a tratar, el tipo, la dosis y/o la frecuencia de la molécula de unión, receptor recombinante, célula y/o composición administrada, la gravedad y la evolución de la enfermedad, la terapia anterior, el historial clínico del pacientes y la respuesta a terapia celular, por ejemplo, dosis de linfocitos T modificadas por ingeniería genética (linfocitos T CAR^+), y a criterio del médico tratante.

VI. ARTÍCULOS DE FABRICACIÓN Y KITS

También se divulgan artículos de fabricación y kits que contienen células modificadas por ingeniería genética que expresan un receptor recombinante o composiciones de las mismas y, opcionalmente, instrucciones de uso, por ejemplo, instrucciones para la administración, de acuerdo con los métodos que se divulgan.

En algunos casos, en el presente documento se divulgan artículos de fabricación y/o kits que incluyen una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de las células modificadas por ingeniería genética que se describen en el presente documento, e instrucciones para la administración, a un sujeto para tratar una enfermedad o afección. En algunas divulgaciones, las instrucciones pueden especificar algunos o todos los elementos de los métodos que se divulgan en el presente documento. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican instrucciones particulares para la administración de las células para terapia celular, por ejemplo, dosis, momento, selección y/o identificación de sujetos para la administración y condiciones para la administración. En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación y/o kits incluyen además uno o más agentes adicionales para terapia, por ejemplo, terapia de reducción de linfocitos y/o terapia combinada, tal como cualquiera de los que se describen en el presente documento y, opcionalmente, incluye además instrucciones para administrar el agente adicional para terapia. En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación y/o los kits comprenden además un agente para la terapia de reducción de linfocitos y, opcionalmente, incluyen además instrucciones para administrar la terapia de reducción de linfocitos. En algunas divulgaciones, las instrucciones pueden incluirse como una etiqueta o prospecto que acompaña a las composiciones para la administración.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican los criterios para la selección o identificación de sujetos para terapia. En algunas divulgaciones, dichos criterios incluyen sujetos que tienen una neoplasia maligna de linfocitos B, tal como un linfoma de linfocitos B grandes. En algunas divulgaciones, dichos criterios incluyen sujetos que tienen linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) o un subtipo del mismo o LNH o subtipo del mismo y/o un LNH de alto riesgo. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen una enfermedad o condición caracterizada o determinada como LNH agresivo, linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP), linfoma de linfocitos B grandes ricos en histocitos/linfocitos T (LLBGRHLT), linfoma de Burkitt (LB), linfoma de células del manto (LCM) y/o linfoma folicular (LF). En divulgaciones particulares, el sujeto que va a tratarse incluye sujetos con LNH agresivo, en particular, con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), no especificado de otra manera (NOS) y en algunas divulgaciones que incluyen de novo o transformado a partir de indolente. En algunas divulgaciones, el sujeto o población a tratar puede incluir y/o incluir además sujetos con linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) o linfoma folicular grado 3B (LF3B). En algunas divulgaciones, el sujeto tiene linfoma folicular (LF).

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen un LDLBG, NOS, que en algunos casos, puede caracterizarse como un LDLBG que no es un LDLBG con localización extraganglionar predominante, un LDLBG que no es un linfoma de células grandes de linfocitos B diferenciados terminalmente, o un LDLBG que no es una neoplasia de linfocitos B con características intermediadas entre el LDLBG y otros tumores linfoides.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen un LDLBG, no especificado de otra manera (LDLBG, NOS), que en algunos casos, puede caracterizarse como un LDLBG que no es un linfoma de linfocitos B grandes rico en histocitos/linfocitos T (LLBGRHLT), que no es un LDLBG primario del sistema nervioso central (SNC), que no es un LDCBG cutáneo primario, tipo de pierna, o un LDLBG positivo para el virus de Epstein-Barr (VEB) (p. ej., un LDLBG positivo para VEB de personas mayores) y, opcionalmente, un LDLBG que no es un LDLBG asociado a inflamación crónica.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen un LDLBG, NOS, que en algunos casos, se puede caracterizar como un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un leucemialinfoma linfoblástico B (B-LBL), un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un linfoma de Burkitt, o un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un linfoma de células B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6. En algunas divulgaciones, LDLBG puede ser un LDLBG, NOS, que en algunos casos, se puede caracterizar como un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un leucemialinfoma linfoblástico B (B-LBL), un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un linfoma de Burkitt, o un linfoma de linfocitos B de alto grado que no es un linfoma de células B de alto grado con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen un LDLBG, NOS, que en algunos casos, puede caracterizarse como que es similar a linfocitos B del centro germinal (BCG) y similar a linfocitos B activados (LBA) según las características moleculares y/o citogenéticas de las células de origen.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen un LDLBG. En algunas divulgaciones, el LDLBG es un LDLBG, no especificado de otra manera (NOS), que en algunos casos, puede caracterizarse como de novo o transformarse a partir de una enfermedad indolente. En algunas divulgaciones, el LDLBG es un LDLBG de novo o primario. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que

va a tratarse (como el linfoma como el LDLBG) se transforma a partir de un subtipo diferente de enfermedad o afección, tal como transformado a partir de un linfoma indolente, como un linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, tales otros linfomas indolentes pueden incluir, por ejemplo, linfoma de linfocitos B de zona marginal (LZM) y leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico de células pequeñas (LLC/LLP). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que va a tratarse es LDLBG transformado a partir de linfoma folicular (LFt); en algunas divulgaciones, es un LDLBG transformado a partir de otro linfoma indolente. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que va a tratarse es un LDLBG transformado a partir de LF. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que va a tratarse es un LDLBG transformado a partir de un linfoma indolente distinto de un LF.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen un LDLBG que se transforma a partir de otro linfoma indolente, tal como LDLBG transformado a partir de linfoma de zona marginal (LZMt) o LDLBG transformado a partir de leucemia linfocítica crónica (LLCt; de Richter). En algunos casos, la enfermedad o afección que va a tratarse es LDLBG LZMt o LDLBG LLCt. En algunas divulgaciones, es una enfermedad o afección que va a tratarse transformada a partir de un linfoma indolente distinto del LF. En algunas divulgaciones, es un LDLBG o linfoma de linfocitos B grandes, tal como un LDLBG o un linfoma de linfocitos B grandes transformado a partir de un LF u otro linfoma indolente.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen un linfoma de linfocitos B de alto grado con reordenamientos MYC y BCL2 y/o BCL6, opcionalmente con histología de LDLBG. En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección que va a tratarse es un LDLBG NOS (de novo o transformado a partir de indolente). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) o linfoma folicular grado 3B (LF3B). En algunas divulgaciones, la enfermedad o afección es linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones, es un LDLBG con afectación del SNC.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que los sujetos a tratar incluyen sujetos que tienen o se ha identificado que tienen un linfoma de doble/triple impacto o un linfoma de los subtipos moleculares de doble/triple impacto. En algunas divulgaciones, el linfoma es un linfoma de doble impacto caracterizado por la presencia de MYC (oncogén de mielocitomatosis), reordenamientos (p. ej., translocaciones) de los genes BCL2 (linfoma de linfocitos B 2) y/o BCL6 (linfoma de linfocitos B 6). En algunas divulgaciones, el reordenamiento de genes afecta al locus MYC/8q24 en combinación con otro reordenamiento de genes. Por ejemplo, el otro reordenamiento genético incluye t(14;18)(q32;q21) que involucra a BCL2. En algunas divulgaciones, los reordenamientos de genes afectan el locus MYC/8q24 en combinación con BCL6/3q27. En algunas divulgaciones, el linfoma es un linfoma de triple impacto caracterizado por la presencia de reordenamientos de genes MYC, BCL2 y BCL6; véanse, por ejemplo, Aukema et al., (2011) Blood 117:2319-2331.

En algunas divulgaciones, el sujeto o población a tratar incluye aquellos sujetos que tienen un estado funcional deficiente. En algunas divulgaciones, la población que ha de tratarse, por ejemplo, sujetos que tienen un Estado de Desempeño del Grupo de Oncología Cooperativo del Este (ECOG) que está en cualquier lugar entre 0-2. En otras divulgaciones de cualquiera de las divulgaciones, los sujetos a tratar incluyen ECOG 0-1 o no incluyen sujetos ECOG2. En algunas divulgaciones, de cualquiera de las divulgaciones, los sujetos que se han de tratar han fracasado en dos o más terapias anteriores. En algunas divulgaciones, el sujeto no tiene LDLBG transformado a partir de linfoma de zona marginal (LZM) y leucemia linfocítica crónica (LLC; de Richter) y/o tiene un LDLBG caracterizado como de novo o transformado a partir de una enfermedad indolente. En algunas divulgaciones, el sujeto tiene linfoma de células del manto (LCM). En algunas de cualquiera de las divulgaciones, los sujetos tienen linfoma folicular (LF). En algunas divulgaciones de tales divulgaciones, el sujeto es ECOG 0-1 o no tiene o no se sospecha o se caracteriza como que tiene LDLBG transformado a partir de LZM o LLC. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que la administración de la terapia celular es para un sujeto que se identifica o se ha identificado que tiene un linfoma de doble/triple impacto (o linfoma de linfocitos B de alto grado, con reordenamientos MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología LDLBG), se ha identificado que tiene un linfoma resistente a quimioterapia, (p. ej., LDLBG resistente a quimioterapia) y/o que no ha logrado la remisión completa (RC) en respuesta a una terapia anterior.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican la dosis de células que se han de administrar. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, la dosis especificada en las instrucciones incluye un total de células que expresan el receptor recombinante (p. ej., CAR) entre exactamente o aproximadamente 1×10^6 y exactamente o aproximadamente 5×10^8, por ejemplo, en el intervalo de desde exactamente o aproximadamente 1×10^7 hasta exactamente o aproximadamente 2×10^8 de tales células, tal como exactamente o aproximadamente 1 x 10', 5×10^7, 1×10^8 o $1{,}5 \times 10^8$ de dichas células totales, o el intervalo entre cualesquiera dos de los valores anteriores. En algunas divulgaciones, al paciente se le administran múltiples dosis, y cada una de las dosis o la dosis total puede estar dentro de cualquiera de los valores anteriores.

En algunas divulgaciones, el artículo de fabricación o kit comprende un recipiente, opcionalmente un vial que comprende una pluralidad de linfocitos T $CD4^+$ que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) y un recipiente, opcionalmente un vial que comprende una pluralidad de linfocitos T $CD8^+$ que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR). En algunas divulgaciones, el artículo de fabricación o kit comprende un recipiente,

opcionalmente un vial que comprende una pluralidad de linfocitos T $CD4^+$ que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR) y comprende además, en el mismo recipiente, una pluralidad de linfocitos T $CD8^+$ que expresan un receptor recombinante (por ejemplo, CAR). En algunas divulgaciones, se incluye un crioprotector con las células. En algunas divulgaciones, el recipiente es una bolsa. En algunas divulgaciones, el recipiente es un vial.

En algunas divulgaciones, el recipiente tal como el vial comprende más que o más que exactamente o aproximadamente 10 x 10^6 linfocitos T o linfocitos T que expresan receptores recombinantes (p. ej., CAR), más que o más que exactamente o aproximadamente 15 × 10^6 linfocitos T o linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), más que o más que exactamente o aproximadamente 25 × 10^6 linfocitos T o linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR). En algunas divulgaciones, el vial comprende entre exactamente o aproximadamente 10 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 70 millones de células por ml, entre exactamente o aproximadamente 10 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 50 millones de células por ml, entre exactamente o aproximadamente 10 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 25 millones de células por ml, entre exactamente o aproximadamente 10 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 15 millones de células por ml, 15 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 70 millones de células por ml, entre exactamente o aproximadamente 15 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 50 millones de células por ml, entre exactamente o aproximadamente 15 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 25 millones de células por ml, entre exactamente o aproximadamente 25 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 70 millones de células por ml, entre exactamente o aproximadamente 25 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 50 millones de células por ml, y entre exactamente o aproximadamente 50 millones de células por ml y exactamente o aproximadamente 70 millones de células por ml. En algunas divulgaciones, la concentración de células en el recipiente es de células viables en el recipiente.

En algunas divulgaciones, el recipiente, tal como el vial, comprende más de exactamente o aproximadamente 0,5 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 1,0 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 1,5 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 2,0 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 2,5 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 2,6 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 2,7 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 2,8 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 2,9 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml más de exactamente o aproximadamente 3,0 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 3,5 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 4,0 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml, más de exactamente o aproximadamente 4,5 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml o más de exactamente o aproximadamente 5 x 10^6 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+)/CD3+ o dichas células viables por ml. En algunas divulgaciones, las células CD3+ son linfocitos T CD4+. En algunas divulgaciones, las células CD3+ son linfocitos T CD8+. En algunas divulgaciones, los linfocitos T CD3+ son linfocitos T CD4+ y CD8+.

En algunas divulgaciones, la pluralidad de viales o pluralidad de células o dosis unitaria de células especificadas para la administración, en conjunto, comprende una dosis de células que comprende de o de aproximadamente 1 x 10^5 a o a aproximadamente 5 x 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, de 1 x 10^5 a o a aproximadamente 1 x 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, de o de aproximadamente 5 x 10^5 a o a aproximadamente 1 x 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, o de o de aproximadamente 1 x 10^6 a o a aproximadamente 1 x 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales, cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, los linfocitos T son células CD3+. En algunas divulgaciones, las células CD3+ son linfocitos T CD8+. En algunas divulgaciones, los linfocitos T CD3+ son linfocitos T CD4+ y CD8+. En algunas divulgaciones, la pluralidad de viales o pluralidad de células o dosis unitaria de células especificadas para la administración incluyen una o más dosis unitarias de linfocitos T CD3+ CD4+ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) y una o más dosis unitarias de linfocitos T CD3+ CD8+ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR). En algunas divulgaciones, el número de células de cada dosis unitaria son células viables.

En algunas divulgaciones, el artículo comprende una o más dosis unitarias de las células $CD4^+$ y $CD8^+$ o de las células $CD4^+$receptor$^+$ (por ejemplo, CAR+) células y las células $CD8^+$receptor$^+$ (por ejemplo, CAR+), en donde la dosis unitaria comprende entre exactamente o aproximadamente 1 x 10^7 y exactamente o aproximadamente 2 x 10^8

linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), entre exactamente o aproximadamente 5 x 10^7 y exactamente o aproximadamente 1,5 x 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), exactamente o aproximadamente 5 x 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), exactamente o aproximadamente 1 x 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) o exactamente o aproximadamente 1,5 x 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), opcionalmente en donde la información en el artículo especifica la administración de una o de una pluralidad de dosis unitarias y/o un volumen correspondiente a dicha una o pluralidad de dosis unitarias. En algunos casos, el artículo comprende una o más dosis unitarias de las células $CD8^+$, en donde la dosis comprende entre exactamente o aproximadamente 5 x 10^6 y exactamente o aproximadamente 1 x 10^8 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), la dosis comprende entre exactamente o aproximadamente 1 x 10^7 y exactamente o aproximadamente 0,75 x 10^8 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), la dosis comprende exactamente o aproximadamente 2,5 x 10^7 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptor recombinante (por ejemplo, CAR), o la dosis comprende exactamente o aproximadamente 5 x 10^7 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptor recombinante (por ejemplo, CAR), o la dosis comprende exactamente o aproximadamente 0,75 x 10^8 linfocitos T $CD8^+$ que expresan receptor recombinante (por ejemplo, CAR), opcionalmente en donde la información en el artículo especifica la administración de una o de una pluralidad de dosis unitarias y/o un volumen correspondiente a dicha una o pluralidad de dosis unitarias. En algunos casos, el artículo comprende una o más dosis unitarias de las células $CD4^+$, en donde la dosis comprende entre exactamente o aproximadamente 5 x 10^6 y exactamente o aproximadamente 1 x 10^8 linfocitos T $CD4^+$ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), la dosis comprende entre exactamente o aproximadamente 1 x 10^7 y exactamente o aproximadamente 0,75 x 10^8 linfocitos T $CD4^+$ que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR), la dosis comprende exactamente o aproximadamente 2,5 x 10^7 linfocitos T $CD4^+$ que expresan receptor recombinante (por ejemplo, CAR), o la dosis comprende exactamente o aproximadamente 5 x 10^7 linfocitos T $CD4^+$ que expresan receptor recombinante (por ejemplo, CAR), o la dosis comprende exactamente o aproximadamente 0,75 x 10^8 linfocitos T $CD4^+$ que expresan receptor recombinante (por ejemplo, CAR), opcionalmente en donde la información en el artículo especifica la administración de una o de una pluralidad de dosis unitarias y/o un volumen correspondiente a dicha una o pluralidad de dosis unitarias. En algunas divulgaciones, las células en el artículo, en conjunto, comprenden una dosis de células que comprende no más de exactamente o aproximadamente 1 x 10^8 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales o células CD3+, no más de exactamente o aproximadamente 1 x 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales o células CD3+, no más de exactamente o aproximadamente 0,5 x 10^7 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales o células CD3+, no más de exactamente o aproximadamente 1 x 10^6 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales o CD3+, no más de exactamente o aproximadamente 0,5 x 10^6 linfocitos T que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales o linfocitos T totales o células CD3+. En algunas divulgaciones, el número de células de cada dosis unitaria son células viables.

En algunas divulgaciones, cada vial o la pluralidad de viales o pluralidad de células o dosis unitaria de células especificadas para la administración, en conjunto, comprende una dosis plana de células o una dosis fija de células de manera que la dosis de células no está vinculada o se basa en el área de superficie corporal o el peso de un sujeto.

En algunas divulgaciones, una dosis unitaria de una célula es o comprende el número o cantidad de células, tales como linfocitos T modificados por ingeniería genética, que puede administrarse a un sujeto o a un paciente en una única dosis. En algunas divulgaciones, la dosis unitaria es una fracción del número de células para la administración en una dosis dada.

En algunas divulgaciones, cada vial o la pluralidad de viales o pluralidad de células o dosis unitaria de células especificadas para la administración, en conjunto, comprende una dosis que incluye menos de aproximadamente 5 x 10^8 células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) totales, linfocitos T o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), por ejemplo, en el intervalo de exactamente o aproximadamente 1 x 10^6 a exactamente o 5 x 10^8 de tales células, tal como exactamente o aproximadamente 2 x 10^6, 5 x 10^6, 1 x 10^7, 2,5 x 10^7, 5 x 10^7, 7,5 x 10^7, 1 x 10^8, 1,5 x 10^8, o 5 c 10^8 de tales células, o el intervalo entre cualesquiera dos de los valores anteriores.

En algunas divulgaciones, cada vial o la pluralidad de viales o pluralidad de células o dosis unitaria de células especificadas para la administración, en conjunto, comprende una dosis de células modificadas genéticamente que comprende de exactamente o aproximadamente 1 x 10^5 a exactamente o aproximadamente 5 x 10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1 × 10^5 a exactamente o aproximadamente 2,5 × 10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1 × 10^5 a exactamente o aproximadamente 1 × 10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1 × 10^5 a exactamente o aproximadamente 5 × 10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1 × 10^5 a exactamente o aproximadamente 2,5 × 10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1 × 10^5 a exactamente o aproximadamente 1 × 10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1 × 10^5 a exactamente o aproximadamente 5 × 10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1 × 10^5 a exactamente o aproximadamente 2,5 × 10^6

linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^5 a exactamente o aproximadamente 1×10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^6 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^6$ a exactamente o aproximadamente 5×10^6 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^6 a exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^7 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ a exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^7 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^7 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 5×10^7 a exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^8 a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente 1×10^8 a exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, de exactamente o aproximadamente o $2,5 \times 10^8$ a exactamente o aproximadamente 5×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales.

En algunas divulgaciones, cada vial o la pluralidad de viales o pluralidad de células o dosis unitaria de células especificadas para la administración, en conjunto, comprende una dosis de células modificadas genéticamente que comprende al menos o al menos aproximadamente 1×10^5 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2,5 \times 10^5$ células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 5×10^5 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 1×10^6 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2,5 \times 10^6$ células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 5×10^6 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 1×10^7 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2,5 \times 10^7$ células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 5×10^7 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente 1×10^8 células que expresan CAR, al menos o al menos aproximadamente $2,5 \times 10^8$ células que expresan CAR, o al menos o al menos aproximadamente 5×10^8 células que expresan CAR. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis de células modificadas por ingeniería genética especifican la administración de un número de células de desde o desde aproximadamente 1×10^5 hasta o hasta aproximadamente 5×10^8 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), de o de aproximadamente 5×10^5 a o a aproximadamente 1×10^7 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica total (PBMC) o de o de aproximadamente 1×10^6 a o a aproximadamente 1×10^7 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, la terapia celular comprende la

administración de una dosis de células que comprende un número de células de al menos o al menos aproximadamente 1 x 10^5 células que expresan receptores recombinantes totales, linfocitos T totales o células mononucleares de sangre periférica totales (PBMC), tal como al menos o al menos 1 x 10^6, al menos o al menos aproximadamente 1 x 10^7, al menos o al menos aproximadamente 1 x 10^8 de tales células. En algunas divulgaciones, el número es con referencia al número total de $CD3^+$ o $CD8^+$ o CD4+ y CD8+, en algunos casos también células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR^+). En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis especifican la administración de un número de células de o de aproximadamente 1 x 10^5 a o a aproximadamente 5 x 10^8 linfocitos T $CD3^+$ o $CD8^+$ o CD4+ y CD8+ totales o células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo CAR) $CD3^+$, $CD8^+$ o CD4+ y CD8+, de o de aproximadamente 5 x 10^5 a o a aproximadamente 1 x 10^7 linfocitos T $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$ totales o células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$, o de o de aproximadamente 1 x 10^6 a o a aproximadamente 1 x 10^7 linfocitos T $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$ totales o células que expresan receptores recombinantes (por ejemplo, CAR) $CD3^+$, $CD8^+$ o $CD4^+$ y $CD8^+$, cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis especifican la administración de un número de células de o de aproximadamente 1 x 10^5 a o a aproximadamente 5 x 10^8 células $CD3^+/CAR^+$ o $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ totales, de o de aproximadamente 5 x 10^5 a o a aproximadamente 1 x 10^7 células $CD3^+/CAR^+$ o $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ totales, o de o de aproximadamente 1 x 10^6 a o a aproximadamente 1 x 10^7 células $CD3^+/CAR^+$ o $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$ totales, cada uno inclusive. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis especifican administrar un número de células que comprende al menos o al menos aproximadamente 2,5 x 10^7 linfocitos T CD3+/CAR^+, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$, al menos o al menos aproximadamente 5 x 10^7 linfocitos T CD3+/CAR^+, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$, o al menos o al menos aproximadamente 1 x 10^8 linfocitos T CD3+/CAR^+, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$. En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis especifican administrar un número de células que comprenden exactamente o aproximadamente 2,5 x 10^7 linfocitos T CD3+/CAR^+, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$, exactamente o aproximadamente 5 x 10^7 linfocitos T CD3+/CAR^+, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$, o exactamente o aproximadamente 1 × 10^8 linfocitos T CD3+/CAR^+, $CD8^+/CAR^+$ o $CD4^+/CD8^+/CAR^+$. En algunas divulgaciones, el número de células es el número de dichas células que son células viables.

En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis especifican administrar un número de células que es de exactamente o aproximadamente 5 x 10^7 células viables CD3+ CAR+, que incluye una dosis separada de exactamente o aproximadamente 2,5 x 10^7 células viables CD4+ CAR+ y exactamente o aproximadamente 2,5 x 10^7 células viables CD8+CAR+. En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis especifican administrar un número de células que es de exactamente o aproximadamente 1 x 10^8 células viables CD3+CAR+, que incluye una dosis separada de exactamente o aproximadamente 5 x 10^7 células viables CD4+ CAR+ y exactamente o aproximadamente 5 × 10^7 células viables CD8+CAR+. En algunas divulgaciones, las instrucciones para la administración de una dosis especifican administrar un número de células que es de exactamente o aproximadamente 1,5 x 10^8 células viables CD3+CAR+, que incluye una dosis separada de exactamente o aproximadamente 0,75 x 10^8 células viables CD4+ CAR+ y exactamente o aproximadamente 0,75 × 10^8 células viables CD8+CAR+.

En algunas divulgaciones, las instrucciones pueden especificar la pauta posológica y el momento de la administración. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, las instrucciones pueden especificar la administración al sujeto de dosis múltiples, por ejemplo, dos o más dosis, de las células. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican el momento de las dosis múltiples, por ejemplo, administrándose la segunda dosis aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 21 días después de la primera dosis; y/o la cantidad de dosificación en cada dosis.

En algunas divulgaciones, el artículo de fabricación o kit comprende una pluralidad de linfocitos T $CD4^+$ que expresan un receptor recombinante e instrucciones para administrar, a un sujeto que tiene una enfermedad o afección, todos o una porción de la pluralidad de linfocitos T $CD4^+$ y administrar además linfocitos T $CD8^+$ que expresan un receptor recombinante. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican administrar los linfocitos T $CD4^+$ antes de administrar las células $CD8^+$. En algunos casos, las instrucciones especifican administrar los linfocitos T $CD8^+$ antes de administrar las células $CD4^+$. En algunas divulgaciones, el artículo de fabricación o kit comprende una pluralidad de linfocitos T $CD8^+$ que expresan un receptor recombinante e instrucciones para administrar, a un sujeto que tiene una enfermedad o afección, todos o una porción de la pluralidad de linfocitos T $CD8^+$ y linfocitos T $CD4^+$ que expresan un receptor recombinante. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican la pauta posológica y el momento de la administración de las células.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican administrar todo o una porción de los linfocitos T $CD4^+$ y la totalidad o una porción de los linfocitos T $CD8^+$ con 48 horas de diferencia, tal como no más de 36 horas de diferencia, no más de 24 horas de diferencia, no más de 12 horas, de diferencia, tal como de 0 a 12 horas de diferencia, de 0 a 6 horas de diferencia o de 0 a 2 horas de diferencia. En algunos casos, las instrucciones especifican administrar los linfocitos T $CD4^+$ y los linfocitos T $CD8^+$ con no más de 2 horas, no más de 1 hora, no

más de 30 minutos, no más de 15 minutos, no más de 10 minutos o no más de 5 minutos de diferencia.

En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican la dosis o el número de células o tipos de células y/o una relación de tipos de células, por ejemplo, poblaciones individuales o subtipos, como la relación de $CD4^+$ a $CD8^+$. En algunas divulgaciones, las poblaciones o subtipos de células, tal como linfocitos T $CD8^+$ y $CD4^+$. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, las instrucciones especifican que las células se administran en o dentro de un intervalo tolerado de una relación de producción de múltiples poblaciones o subtipos de células, como células $CD4^+$ y $CD8^+$ o subtipos, de entre exactamente o aproximadamente 5:1 y exactamente o aproximadamente 5:1 (o mayor que aproximadamente 1:5 y menor que aproximadamente 5:1), o entre exactamente o aproximadamente 1:3 y exactamente o aproximadamente 3:1 (o mayor que aproximadamente 1:3 y menor que aproximadamente 3:1), tal como entre exactamente o aproximadamente 2:1 y exactamente o aproximadamente 1:5 (o mayor que aproximadamente 1:5 y menor que aproximadamente 2:1, tal como exactamente o aproximadamente 5:1, 4,5:1, 4:1, 3,5:1, 3:1, 2,5:1, 2:1, 1,9:1, 1,8:1, 1,7:1, 1,6:1, 1,5:1, 1,4:1, 1,3:1, 1,2:1, 1,1:1, 1:1, 1:1,1, 1:1,2, 1:1,3, 1:1,4, 1:1,5, 1:1,6, 1:1,7, 1:1,8, 1:1,9: 1:2, 1:2,5, 1:3, 1:3,5, 1:4, 1:4,5 o 1:5. En algunas divulgaciones, la diferencia tolerada está dentro de aproximadamente el 1 %, aproximadamente el 2 %, aproximadamente el 3 %, aproximadamente el 4 %, aproximadamente el 5 %, aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 20 %, aproximadamente el 25 %, aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 35 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 45 %, aproximadamente el 50 % de la relación deseada, incluyendo cualquier valor entre estos intervalos.

En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación y/o kits incluyen además uno o más agentes adicionales para terapia, por ejemplo, terapia de reducción de linfocitos y/o terapia combinada, como se describe en el presente documento, y opcionalmente instrucciones para administrar los agentes adicionales. En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación pueden contener además uno o más agentes terapéuticos. En algunas divulgaciones, el agente terapéutico es un agente inmunomodulador, un agente citotóxico, un agente anti-neoplásico o un agente radioterápico.

En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación y/o kits incluyen además uno o más agentes o tratamientos para tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad y/o instrucciones para la administración de uno o más agentes o tratamientos para tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad en el sujeto. En algunas divulgaciones, el agente es o comprende un anticuerpo anti-IL-6 o un anticuerpo anti-receptor de IL-6. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agente o tratamiento es o comprende un agente seleccionado de entre tocilizumab, siltuximab, clazakizumab, sarilumab, olokizumab (CDP6038), elsilimomab, ALD518/BMS-945429, sirukumab (CNTO 136), CPSI-2634, ARGX-109, FE301 y FM101. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el agente o tratamiento es o comprende uno o más de un esteroide; un antagonista o inhibidor de un receptor de citocinas o una citocina seleccionados de entre IL-10, IL-10R, IL-6, receptor de IL-6, IFNγ, IFNGR, IL-2, IL-2R/CD25, MCP-1, CCR2, CCR4, MIP1β, CCR5, TNFalfa, TNFR1, IL-1 e IL-1Ralfa/IL-1beta; o un agente capaz de prevenir, bloquear o reducir la actividad o función de las células microgliales.

En algunas divulgaciones, el agente capaz de prevenir, bloquear o reducir la actividad o función de las células microgliales se selecciona de un agente antiinflamatorio, un inhibidor de la NADPH oxidasa (NOX2), un bloqueante de los canales de calcio, un bloqueante de los canales de sodio, inhibe GM-CSF, inhibe CSF1R, se une específicamente a CSF-1, se une específicamente a IL-34, inhibe la activación del factor nuclear kappa B (NF-κB), activa un receptor de CB_2 y/o es un agonista de CB_2, un inhibidor de fosfodiesterasa, inhibe el microARN-155 (miR-155) o regula positivamente el microARN-124 (miR-124). En algunos casos, el agente se selecciona de minociclina, naloxona, nimodipino, Riluzol, MOR103, lenalidomida, un cannabinoide (opcionalmente WIN55 o 212-2), inmunoglobulina intravenosa (IVIg), ibudilast, ácido nucleico bloqueado anti-miR-155 (LNA), MCS110, PLX-3397, PLX647, PLX108-D1, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, AC-708, DCC-3014, 5-(3-metoxi-4-((4-metoxibencil)oxi)bencil) pirimidina-2,4-diamina (GW2580), AZD6495, Ki20227, BLZ945, emactuzumab, IMC-CS4, FPA008, LY-3022855, AMG-820 y TG-3003. En algunas divulgaciones, el agente es un inhibidor del receptor del factor 1 estimulante de colonias (CSF1R). Por ejemplo, el agente PLX-3397, PLX647, PLX108-D1, PLX7486, JNJ-40346527, JNJ28312141, ARRY-382, AC-708, DCC-3014, 5-(3-metoxi-4-((4-metoxibencil)oxi)bencil)pirimidina-2,4-diamina (GW2580), AZD6495, Ki20227, BLZ945 o una sal farmacéutica o profármaco del mismo; emactuzumab, IMC-CS4, FPA008, LY-3022855, AMG-820 y TG-3003 o es un fragmento de unión a antígeno de los mismos, o una combinación de cualquiera de los anteriores.

En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación y/o kits incluyen además uno o más reactivos para someter a ensayo muestras biológicas, por ejemplo, muestras biológicas de sujetos que son candidatos para la administración o a los que se les ha administrado la terapia y, opcionalmente, instrucciones para el uso de los reactivos o ensayos. En algunas divulgaciones, la muestra biológica es o se obtiene de una muestra de sangre, plasma o suero. En algunas divulgaciones, los reactivos pueden usarse antes de la administración de la terapia celular o después de la administración de la terapia celular, con fines diagnósticos, para identificar sujetos y/o para evaluar resultados de tratamiento y/o toxicidades. Por ejemplo, en algunas divulgaciones, el artículo de fabricación y/o los kits contienen además reactivos para medir el nivel de biomarcadores particulares, por ejemplo, citocinas o analitos, que se asocian a toxicidad e instrucciones para la medición. En algunas divulgaciones, los reactivos incluyen componentes

para realizar un ensayo *in vitro* para medir los biomarcadores (por ejemplo, analitos), tal como un inmunoensayo, un ensayo basado en aptámeros, un ensayo histológico o citológico, o un ensayo de nivel de expresión de ARNm. En algunas divulgaciones, el ensayo *in vitro* se selecciona de entre un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), inmunotransferencia, inmunoprecipitación, radioinmunoensayo (RIA), inmunotinción, ensayo de citometría de flujo, resonancia de plasmón superficial (SPR), ensayo de quimioluminiscencia, inmunoensayo de flujo lateral, ensayo de inhibición y ensayo de avidez. En algunas divulgaciones, el reactivo es un reactivo de unión que se une específicamente a los biomarcadores (por ejemplo, analitos). En algunos casos, el reactivo de unión es un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, un aptámero o una sonda de ácido nucleico.

En algunas divulgaciones, los artículos de fabricación y/o kits comprenden uno o más reactivos capaces de detectar uno o más analitos, e instrucciones para usar el reactivo para someter a ensayo una muestra biológica de un sujeto que es candidato para el tratamiento, en donde el uno o más analitos se seleccionan de LDH, ferritina, PCR, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-alfa, IFN-gamma, MCP-1, MIP-1beta, eotaxina, G-CSF, IL-1Ralfa, IL-1Rbeta, IP-10, perforina y dímero D (producto de degradación de la fibrina). En algunas divulgaciones, el uno o más analitos incluyen LDH, ferritina y/o PCR. En algunas divulgaciones, también se incluyen instrucciones para someter a ensayo la presencia o ausencia, nivel, la cantidad o la concentración de un analito en el sujeto en comparación con un nivel umbral del analito. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican métodos para realizar la evaluación o el control de dichos analitos, por ejemplo, LDH, ferritina y/o PCR, de acuerdo con cualquiera de los métodos que se divulgan.

En algunas divulgaciones, se incluyen las instrucciones que especifican, si el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra es exactamente o superior a un nivel umbral para el analito, administrar al sujeto un agente u otro tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar, reducir o atenuar el desarrollo o riesgo de desarrollo de una toxicidad (i) antes de, (ii) en uno, dos o tres días de, (iii) simultáneamente con y/o (iv) en la primera fiebre después de, el inicio de la administración de la terapia celular al sujeto. En algunos casos, las instrucciones especifican que si el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra es exactamente o superior a un nivel umbral para el analito, la terapia celular se administra al sujeto a una dosis reducida o a una dosis que no se asocia al riesgo de desarrollar toxicidad o toxicidad grave, o no se asocia al riesgo de desarrollar una toxicidad o toxicidad grave en la mayoría de los sujetos, y/o una mayoría de sujetos que tienen una enfermedad o condición que el sujeto tiene o se sospecha que tiene, después de la administración de la terapia celular. En algunos casos, las instrucciones especifican que si el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra es exactamente o superior a un nivel umbral para el analito, la terapia celular se administra en un entorno hospitalario y/o con admisión en el hospital durante uno o más días, opcionalmente en donde la terapia celular se ha de administrar de otro modo a los sujetos de forma ambulatoria o sin admisión en el hospital durante uno o más días.

En algunas divulgaciones, las instrucciones para administrar la terapia celular especifican, si el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra, es inferior a un nivel umbral, administrar al sujeto la terapia celular, opcionalmente a una dosis no reducida, opcionalmente de forma ambulatoria o sin admisión en el hospital durante uno o más días. En algunas divulgaciones, las instrucciones para administrar la terapia celular especifican, si el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra, es inferior a un nivel umbral, antes o simultáneamente con la administración de la terapia celular y/o antes del desarrollo de un signo o síntoma de una toxicidad distinta de la fiebre, un agente o tratamiento capaz de tratar, prevenir, retrasar o atenuar el desarrollo de la toxicidad no se administra al sujeto. En algunas divulgaciones, las instrucciones para administrar la terapia celular especifican que si el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra, es inferior a un nivel umbral, la administración de la terapia celular ha de administrarse o puede administrarse al sujeto en un entorno ambulatorio y/o sin admisión del sujeto en el hospital durante la noche o durante uno o más días consecutivos y/o es sin admisión del sujeto en el hospital durante uno o más días.

Los artículos de fabricación y/o kits pueden incluir además una terapia celular y/o incluir además instrucciones para su uso con, antes y/o en relación con el tratamiento con la terapia celular. En algunas divulgaciones, las instrucciones se incluyen para administrar el agente y las instrucciones especifican que si el nivel, cantidad o concentración del analito en la muestra, es exactamente o superior a un nivel umbral, administrar al sujeto el agente. En algunas divulgaciones, las instrucciones especifican además administrar una terapia celular al sujeto, en donde la administración del agente ha de realizarse (i) antes de, (ii) en uno, dos o tres días de, (iii) simultáneamente con y/o (iv) en la primera fiebre después de, el inicio de la administración de la terapia celular al sujeto.

Los artículos de fabricación y/o kits pueden incluir un recipiente y una etiqueta o prospecto sobre o asociado al recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas, bolsas de solución IV, etc. Los recipientes pueden formarse a partir de una diversidad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente en algunas divulgaciones contiene una composición que está sola o combinada con otra composición eficaz para tratar, prevenir y/o diagnosticar la afección. En algunas divulgaciones, el recipiente tiene un puerto de acceso estéril. Los recipientes de ejemplo incluyen bolsas de solución intravenosa, viales, incluyendo aquellos con tapones perforables por una aguja para inyección, o frascos o viales para agentes administrados por vía oral. La etiqueta o el prospecto pueden indicar que la composición se usa para tratar una enfermedad o afección. El artículo de fabricación puede incluir (a) un primer recipiente con una composición contenida en el mismo, en donde la composición incluye células modificadas por ingeniería genética que expresan un receptor recombinante; y (b) un segundo recipiente con una

composición contenida en el mismo, en donde la composición incluye el segundo agente. En algunas divulgaciones, el artículo de fabricación puede incluir (a) un primer recipiente con una primera composición contenida en el mismo, en donde la composición incluye un subtipo de células modificadas por ingeniería genética que expresan un receptor recombinante; y (b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo, en donde la composición incluye un subtipo diferente de células modificadas por ingeniería genética que expresan un receptor recombinante. El artículo de fabricación puede incluir además un prospecto que indica que las composiciones pueden usarse para tratar una afección particular. Como alternativa, o adicionalmente, el artículo de fabricación puede incluir además otro o el mismo recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable. Puede incluir además otros materiales tales como otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y/o jeringas.

VIII. DEFINICIONES

Los términos "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente para referirse a un polímero de restos de aminoácidos, y no se limitan a una longitud mínima. Los polipéptidos, incluyendo los receptores proporcionados y otros polipéptidos, por ejemplo, enlazadores o péptidos, puede incluir restos de aminoácidos que incluyen restos de aminoácidos naturales y/o no naturales. Los términos también incluyen modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, sialilación, acetilación y fosforilación. En algunos aspectos, los polipéptidos pueden contener modificaciones con respecto a una secuencia nativa o natural, siempre que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como a través de mutagénesis dirigida al sitio, o puede ser accidental, tal como a través de mutaciones de hospedadores que producen las proteínas o errores debido a la amplificación por PCR.

Como se usa en el presente documento, un "sujeto" es un mamífero, tal como un ser humano u otro animal, y normalmente es un ser humano. En algunas realizaciones, el sujeto, por ejemplo, paciente, a quien se le administra el agente o agentes, las células, las poblaciones celulares o composiciones, es un mamífero, normalmente un primate, tal como un ser humano. En algunas realizaciones, el primate es un mono o un simio. El sujeto puede ser hombre o mujer y puede tener cualquier edad adecuada, incluyendo sujetos bebés, niños, adolescentes, adultos y geriátricos. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero no primate, tal como un roedor.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" (y variaciones gramaticales del mismo, tales como "trata" o "tratar") se refiere a la mejora o reducción completa o parcial de una enfermedad o afección o trastorno, o un síntoma, efecto o resultado adverso, o fenotipo asociado al mismo. Los efectos deseables del tratamiento incluyen, pero sin limitación, prevenir la aparición o reaparición de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la disminución de cualesquiera consecuencias patológicas directas o indirectas de la enfermedad, prevenir la metástasis, disminuir la velocidad de progresión de la enfermedad, la mejora o paliación de la patología y remisión o pronóstico mejorado. Los términos no implican la curación completa de una enfermedad o la eliminación completa de cualquier síntoma o efecto o efectos en todos los síntomas o resultados.

Como se usa en el presente documento, "retrasar de desarrollo de una enfermedad" significa diferir, impedir, ralentizar, retardar, estabilizar, suprimir y/o posponer el desarrollo de la enfermedad (tal como el cáncer). Este retraso puede ser de diferentes períodos de tiempo, dependiendo de la historia de la enfermedad y/o del individuo que se está tratando. En algunas realizaciones, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, incluir la prevención, en el sentido de que el individuo no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, un cáncer en estadio tardío, tal como el desarrollo de metástasis, puede retrasarse.

"Prevenir", como se usa en el presente documento, incluye proporcionar profilaxis con respecto a la aparición o reaparición de una enfermedad en un sujeto que puede estar predispuesto a la enfermedad, pero al que aún no se le ha diagnosticado la enfermedad. En algunas realizaciones, las células y composiciones proporcionadas se usan para retrasar el desarrollo de una enfermedad o ralentizar la progresión de una enfermedad.

Como se usa en el presente documento, "suprimir" una función o actividad es reducir la función o actividad en comparación con las mismas condiciones, excepto por una condición o parámetro de interés, o como alternativa, en comparación con otra condición. Por ejemplo, las células que suprimen el crecimiento tumoral reducen la tasa de crecimiento del tumor en comparación con la tasa de crecimiento del tumor en ausencia de las células.

Una "cantidad eficaz" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica, célula o composición, en el contexto de la administración, se refiere a una cantidad eficaz, en las dosificaciones/cantidades y durante los períodos de tiempo necesarios, para conseguir un resultado deseado, tal como un resultado terapéutico o profiláctico.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un agente, por ejemplo, una formulación farmacéutica o células, se refiere a una cantidad eficaz, en las dosificaciones y durante los periodos de tiempo necesarios, para conseguir un resultado terapéutico deseado, tal como para el tratamiento de una enfermedad, afección o trastorno, y/o un efecto farmacocinético o farmacodinámico del tratamiento. La cantidad terapéuticamente eficaz puede variar de acuerdo con factores tales como la patología, la edad, el sexo y el peso del sujeto, y las poblaciones de células administradas. En algunas realizaciones, los métodos proporcionados implican administrar las células y/o composiciones en cantidades eficaces, por ejemplo, cantidades terapéuticamente eficaces.

Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad que es eficaz, en las dosificaciones y durante los periodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado profiláctico deseado. Normalmente, pero no necesariamente, puesto que se usa una dosis profiláctica en sujetos antes de o en un estadio más precoz de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz. En el contexto de una menor carga tumoral, la cantidad profilácticamente eficaz en algunos aspectos será superior a la cantidad terapéuticamente eficaz.

El término "aproximadamente", como se usa en el presente documento, se refiere al intervalo de error habitual para el valor correspondiente, fácilmente conocido por un experto en este **campo técnico**. La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) realizaciones que se dirigen a ese valor o parámetro en sí.

Como se usa en el presente documento, las formas en singular "un/uno", "una", y "el" o "la", incluyen referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por ejemplo, "uno" o "una" significa "al menos uno" o "uno o más".

A lo largo de la presente divulgación, diversos aspectos de la materia objeto reivindicada se presentan en un formato de intervalo. Debería entenderse que la descripción en formato de intervalo es meramente por comodidad y brevedad y no debería interpretarse como una limitación inflexible en el alcance de la materia objeto reivindicada. En consecuencia, se debe considerar que la descripción de un intervalo ha divulgado específicamente todos los posibles subintervalos, así como valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor indicado o intermedio en ese intervalo indicado queda abarcado dentro de la materia objeto reivindicada. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden estar incluidos independientemente en los intervalos más pequeños, y también quedan abarcados dentro de la materia objeto reivindicada, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen alguno o ambos de los límites incluidos también están incluidos en la materia objeto reivindicada. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

Como se usa en el presente documento, una composición se refiere a cualquier mezcla de dos o más productos, sustancias o compuestos, incluyendo células. Puede ser una solución, una suspensión, líquido, polvo, una pasta, acuosos, no acuosos o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en el presente documento, "enriquecimiento" cuando se refiere a uno o más tipos celulares o poblaciones celulares particulares, se refiere a aumentar el número o porcentaje del tipo o población celular, por ejemplo, en comparación con el número total de células en la composición o el volumen de la misma, o con respecto a otros tipos de células, tal como mediante selección positiva basada en marcadores expresados por la población o célula, o mediante selección negativa basada en un marcador no presente en la población celular o célula que se ha de agotar. La expresión no requiere la retirada completa de otras células, tipo celular o poblaciones de la composición y no requiere que las células enriquecidas de este modo estén presentes en o incluso cerca del 100 % en la composición enriquecida.

Como se usa en el presente documento, una afirmación de que una célula o población de células es "positiva" para un marcador particular se refiere a la presencia detectable sobre o en la célula de un marcador particular, normalmente un marcador de superficie. Cuando se hace referencia a un marcador de superficie, la expresión se refiere a la presencia de expresión superficial detectada mediante citometría de flujo, por ejemplo, tiñendo con un anticuerpo que se une específicamente al marcador y detectando dicho anticuerpo, en donde la tinción es detectable mediante citometría de flujo a un nivel sustancialmente superior a la tinción detectada realizando el mismo procedimiento con un control emparejado por isotipo o control de activación de fluorescencia menos uno (FMO) en condiciones idénticas y/o a un nivel sustancialmente similar a aquel para una célula que se sabe que es positiva para el marcador, y/o a un nivel sustancialmente superior al de una célula que se sabe que es negativa para el marcador.

Como se usa en el presente documento, una afirmación de que una célula o población de células es "negativa" para un marcador particular se refiere a la ausencia de la presencia detectable sustancial sobre o en la célula de un marcador particular, normalmente un marcador de superficie. Cuando se hace referencia a un marcador de superficie, la expresión se refiere a la ausencia de expresión superficial detectada mediante citometría de flujo, por ejemplo, tiñendo con un anticuerpo que se une específicamente al marcador y detectando dicho anticuerpo, en donde la tinción no se detecta mediante citometría de flujo a un nivel sustancialmente superior a la tinción detectada realizando el mismo procedimiento con un control emparejado por isotipo o control de activación de fluorescencia menos uno (FMO) en condiciones idénticas y/o a un nivel sustancialmente inferior a aquel para una célula que se sabe que es positiva para el marcador, y/o a un nivel sustancialmente similar en comparación con el de una célula que se sabe que es negativa para el marcador.

El término "vector", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de ácido nucleico que puede

propagar otro ácido nucleico al que está unido. El término incluye el vector en forma de una estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula hospedadora en la que se ha introducido. Determinados vectores son capaces de dirigir la expresión de los ácidos nucleicos a los que están unidos operativamente. Dichos vectores se denominan en el presente documento "vectores de expresión".

A menos que se definan de otra manera, todos los términos de la técnica, las notaciones y otros términos o terminología técnica y científica utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el entendido habitualmente en la materia a la que pertenece la materia objeto reivindicada. En algunos casos, los términos con significados entendidos habitualmente se definen en el presente documento para mayor claridad y/o para facilitar la consulta, y la inclusión de dichas definiciones en el presente documento no debe interpretarse necesariamente como una diferencia sustancial con respecto a lo que se entiende generalmente.

Los encabezamientos de sección utilizados en el presente documento tienen fines organizativos únicamente y no deben considerarse limitantes de la materia objeto que se describe.

X. Ejemplos

Los ejemplos siguientes se incluyen con fines ilustrativos únicamente y no tienen por objeto limitar el alcance de la invención.

Ejemplo 1 Administración de células que expresan CAR anti-CD19 a sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento

A. Sujetos y Tratamiento

Se administraron composiciones de linfocitos T CAR+ terapéuticas que contenían linfocitos T autólogos que expresaban un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19 a sujetos con neoplasias malignas de linfocitos B.

Ejemplo 1.A.1

Los resultados se describen en este Ejemplo 1.A.1 para su evaluación a través de un punto temporal particular (1.A.1) en un estudio clínico en curso que administra dicha terapia a pacientes con neoplasias malignas de linfocitos B. Específicamente, una cohorte (cohorte completa) de (en este momento, cincuenta y cinco (55)) sujetos humanos adultos con linfoma no Hodgkin (LNH) agresivo recurrente o resistente a tratamiento (R/R), incluyendo linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), de novo o transformado a partir de linfoma indolente (NOS), linfoma de linfocitos B de alto grado, con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología de LDLBG (doble/triple impacto), LDLBG transformado a partir de leucemia linfocítica crónica (LLC) o linfomas de zona marginal (LZM), linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP) y linfoma folicular grado 3b (LF3B) después del fracaso de 2 líneas de terapia. Entre los sujetos tratados se encontraban aquellos que tenían puntuaciones del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de entre 0 y 2 (mediana de seguimiento de 3,2 meses). También se incluyeron en el estudio sujetos con LCM después de 1 línea de terapia (véase el Ejemplo 2), sin embargo, la cohorte completa no incluyó sujetos con linfoma de células del manto (LCM). No se excluyó a ningún sujeto por un alotrasplante previo de células madre (TCM), afectación secundaria del sistema nervioso central (SNC) o una puntuación ECOG de 2, y no se requirió un recuento absoluto mínimo de linfocitos (ALC) para la aféresis.

Los resultados se evaluaron por separado para un subconjunto central de sujetos dentro de la cohorte completa (sujetos dentro de la cohorte completa excluyendo aquellos sujetos con un estado funcional deficiente (ECOG 2), LDLBG transformado a partir de linfomas de zona marginal (LZM) y/o leucemia linfocítica crónica (LLC, de Richter), y sujetos con linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBMP) y linfoma folicular grado 3b (LF3B) (cohorte central)). La cohorte central incluye sujetos con LDLBG, NOS y linfoma folicular transformado (LFt) o linfoma de linfocitos B de alto grado (doble/triple impacto) o linfoma de linfocitos B de alto grado, con reordenamientos MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología LDLBG (doble/triple impacto) y con un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 0 o 1. En el momento del Ejemplo 1.A.1, se evaluaron los resultados de 44 sujetos dentro de esta cohorte central.

Los datos demográficos y características de referencia de los sujetos de la cohorte completa y central en el momento del Ejemplo 1.A.1, se exponen en la **Tabla E1.**

Tabla E1. Datos Demográficos y Características de Referencia		
Característica	**COMPLETA N=55**	**CENTRAL N=44**
Mediana de edad, años (intervalo)	61 (29-82)	61 (29-82)
≥ 65 años, n (%)	22 (40)	17 (39)
Hombre/mujer, n (%)	38/17 (69/31)	28/16 (64/36)

(continuación)

Tabla E1. Datos Demográficos y Características de Referencia		
Característica	**COMPLETA N=55**	**CENTRAL N=44**
Meses desde el diagnóstico, mediana (intervalo)	17 (3-259)	20 (8-259)
Subtipo de LNH-B, n (%)		
LDLBG, NOS	40 (73)	35 (80)
LDLBG transformado	14 (26)	8 (18)
Folicular, Grado 3B	1 (2)	1 (2)
Subtipo molecular, n (%)		
Doble/triple impacto	15 (27)	12 (27)
Doble expresor	6 (11)	4 (9)
Características del paciente, n (%)		
Resistente a quimioterapia†	42 (76)	34 (77)
Norma ECOG 0-1	48 (87)	44 (100)
ECOG 2	7 (13)	0
Líneas de terapia anteriores, mediana (intervalo)	3 (1-11)	3 (1-8)
< 5 líneas de terapia	44 (80)	37 (84)
Cualquier TCMH	27 (49)	22 (50)
Alogénica	4 (7)	3 (7)
Autóloga	24 (44)	20 (45)
*CE o PE hasta el último régimen que contiene quimioterapia o recaída <12 meses después del TCM autólogo		

Las composiciones de linfocitos T terapéuticos administradas se habían generado mediante un proceso que incluía el enriquecimiento basado en inmunoafinidad (por ejemplo, selección inmunomagnética) de células $CD4^+$ y $CD8^+$ de muestras de leucocitaféresis de los sujetos individuales que se iban a tratar. Los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ aislados se activaron por separado y se transdujeron independientemente con un vector vírico (por ejemplo, vector lentivírico) que codificaba un CAR anti-CD 19, seguido de una expansión y una crioconservación separadas de las poblaciones de células modificadas por ingeniería genética en un volumen bajo. El CAR contenía un scFv anti-CD 19 derivado de un anticuerpo murino (región variable derivada de FMC63, orientación V_L-enlazador-V_H), un espaciador derivado de inmunoglobulina, un dominio transmembranario derivado de CD28, una región coestimuladora derivada de 4-1BB y un dominio de señalización intracelular de CD3-zeta. El vector vírico contenía además secuencias que codificaban un receptor truncado, que sirvió como marcador sustituto para la expresión de CAR; separado de la secuencia CAR por una secuencia de omisión de ribosoma T2A.

Las composiciones celulares crioconservadas se descongelaron antes de la administración intravenosa. La dosis de linfocitos T terapéuticos se administró como una composición celular definida mediante la administración de una población de células $CD4^+$ CAR^+ formulada y una población de $CD8^+$ CAR^+ formulada administrada en una relación objetivo de aproximadamente 1:1. A los sujetos se les administró una dosis única o doble de linfocitos T que expresaban CAR (cada dosis única a través de infusiones separadas de linfocitos T $CD4^+$ que expresaban CAR y linfocitos T que expresaban CAR CD8+, respectivamente) de la siguiente manera: una dosis única de nivel de dosis 1 (DL-1) que contiene 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales (n=30 para los sujetos evaluados en el Ejemplo 1.A.1), una dosis doble de DL1 en la que cada dosis se administró con aproximadamente catorce (14) días de diferencia (n=6 para los sujetos evaluados en el Ejemplo 1.A.1, administrado el día 1 y el día 14, incluido un sujeto que sin darse cuenta recibió dos dosis de DL2 mediante el programa de dos dosis, debido a un error de dosificación), o una dosis única de nivel de dosis 2 (DL-2) que contiene 1×10^8 de linfocitos T que expresan CAR totales (n=18 para los sujetos evaluados en el Ejemplo 1.A.1). El nivel de dosis objetivo y los números de subconjuntos de linfocitos T para las composiciones administradas se establecen en la **Tabla E2.**

Tabla E2. Niveles de dosis objetivo y número de subconjuntos de linfocitos T para composiciones celulares que contienen linfocitos T CAR anti-CD19			
Nivel de dosis	**Dosis de linfocitos T auxiliares (T_H) ($CD4^+CAR^+$)**	**Dosis de linfocitos T citotóxicos (Tc) ($CD8^+CAR^+$)**	**Dosis de linfocitos T totales ($CD3^+$ CAR^+)**
1	25×10^6	25×10^6	50×10^6
2	50×10^6	50×10^6	100×10^6

Comenzando antes de la infusión de linfocitos T CAR^+, los sujetos recibieron una quimioterapia de reducción de linfocitos con fludarabina (flu, 30 mg/m^2) y ciclofosfamida (Cy, 300 mg/m^2) durante tres (3) días. Los sujetos recibieron linfocitos T que expresaban CAR 2-7 días después de la reducción de linfocitos.

Ejemplo 1.A.2

Por ejemplo 1.A.2, en un punto posterior en el tiempo en el estudio clínico que se describe en este Ejemplo 1

anterior, se analizaron los resultados. En este momento de análisis en el Ejemplo 1.A.2, se habían tratado 74 pacientes (51 hombres, 23 mujeres). Los sujetos incluyeron sesenta y nueve (69) sujetos en la cohorte completa de LDLBG (incluidos 67 LDLBG NOS (45 de novo, 14 transformados a partir de LF, 8 transformados a partir de LLC o LZM), 1 LF grado 3B y 1 LLBMP) y 5 sujetos en la cohorte de LCM. Entre los sujetos de la cohorte completa (LDLBG), la mediana de edad fue 61 años (intervalo 26, 82), la mediana de terapias anteriores fue 3 (intervalo 1, 12), 46 (67 %) eran resistentes a quimioterapia, 32 (46 %) habían tenido algún trasplante anterior y al menos 16 (23 %) pacientes tenían linfoma de doble/triple impacto. Se evaluaron cuarenta y nueve (49) sujetos en la cohorte central en este momento en 1.A2.

B. Seguridad

Se evaluó la presencia o ausencia de acontecimientos adversos emergentes del tratamiento (TEAE) después de la administración de la terapia de linfocitos T-CAR. Se evaluó y controló también a los sujetos para detectar neurotoxicidad (complicaciones neurológicas que incluyen síntomas de confusión, afasia, encefalopatía, crisis epilépticas mioclónicas, convulsiones, letargo y/o estado mental alterado), clasificada en una escala de 1-5, de acuerdo con la escala Criterios de Toxicidad Común del Instituto Nacional del Cáncer (CTCAE), versión 4.03 (NCI-CTCAE v4.03). Escala de Criterios Comunes de Toxicidad (CTCAE), versión 4.03 (NCI-CTCAE v4.03). Véase Common Terminology for Adverse Events (CTCAE) versión 4, Departamento de salud y servicios humanos de los Estados Unidos, Publicado: 28 de mayo de 2009 (v4.03: 14 de junio de 2010); y Guido Cavaletti y Paola Marmiroli *Nature Reviews Neurology* 6, 657-666 (Diciembre de 2010). Se determinó y controló también el síndrome de liberación de citocinas (SLC), clasificado según la gravedad. Véase Lee *et al.*, *Blood*. 2014;124(2): 188-95. En algunos casos, Los datos de acontecimientos adversos se informaron y recopilaron comenzando en la reducción de linfocitos hasta 90 días después de la administración de linfocitos T CAR$^+$.

Ejemplo 1.B.1

El Ejemplo 1.B.1 describe resultados basándose en el punto de tiempo de análisis en el Ejemplo 1.A.1.

La **FIG. 1** representa el porcentaje de tales sujetos que se observó que habían experimentado alteraciones de laboratorio y AADT, que se produjeron en ≥20 % de los sujetos. Además de los AADT mostrados en la **FIG. 1,** se observaron los siguientes términos de acontecimientos en Grado 3-4 en ≥5 % de los pacientes: disminución del recuento de glóbulos blancos (13,6 %), encefalopatía (12 %), hipertensión (7 %). El grado de toxicidad observado fue consistente entre los niveles de dosis 1 y 2.

En el 84 % de los sujetos de la cohorte completa en el análisis del Ejemplo 1.B.1, no se observaron síndrome de liberación de citocinas (SLC) grave (grado 3 o superior) ni neurotoxicidad grave. Adicionalmente, se observó que el 60 % de los sujetos de la cohorte completa no desarrollaron ningún grado de SLC o neurotoxicidad. No hay diferencias en la incidencia del SLC, neurotoxicidad (NT), SLCg o neurotoxicidad grave (NTg) entre niveles de dosis. La **Tabla E3** resume la incidencia del síndrome de liberación de citocinas (SLC) y acontecimientos adversos de neurotoxicidad en pacientes 28 días después de recibir al menos una dosis de linfocitos T-CAR. Como se muestra en la **Tabla E3,** no se observó ningún SLC (Grado 3-4) en ningún sujeto que recibió una dosis única de DL2 o una dosis doble de DL1. Se observó neurotoxicidad grave o SLC grave (grado 3-4) en el 16 % (9/55) de la cohorte completa de sujetos y en el 18 % (8/44) de los sujetos del subconjunto central. El 11 % (n=6) de los sujetos recibieron tocilizumab, El 24 % (n=13) de los sujetos recibieron dexametasona. Entre los sujetos ECOG2 dentro de la cohorte completa, las tasas observadas de SLC y neurotoxicidad fueron del 71 % y el 29 %, respectivamente.

Tabla E3. Evaluación de la presencia o ausencia de SLC y acontecimientos adversos de neurotoxicidad para el Ejemplo 1.B.1

	COMPLETA				CENTRAL
	Todos los niveles de dosis	**DL1S**	**DL2S**	**DL1D†**	
Seguridad, N	55	30	19	6	44
SLCg o NTg, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)
SLC o NT, n (%)	22 (40)	12 (40)	7 (37)	3 (50)	15 (34)
SLC					
Grado 1-2, n (%)	18 (33)	10 (33)	5 (26)	3 (50)	12 (27)
Grado 3-4, n (%)	1 (2)	1 (3)	0	0	1 (2)
Neurotoxicidad					
Grado 1-2, n (%)	3 (6)	1 (3)	2 (11)	0	2 (5)
Grado 3-4, n (%)	9 (16)	6 (20)	2 (11)	1 (17)	8 (18)
Incluye un paciente tratado con el esquema de 2 dosis de DL2 debido a un error de dosificación					

FIG. 2 muestra una curva de Kaplan Meier que representa el tiempo observado hasta la aparición de SLC y/o neurotoxicidad para el análisis en 1.B.1. Como se muestra, los tiempos medianos observados hasta la aparición de SLC y hasta la aparición de neurotoxicidad fueron de 5 y 11 días, respectivamente, Solo el 11 % de los pacientes

experimentan aparición de SLC menos de 72 horas después del inicio de la administración de la terapia celular. La mediana del tiempo hasta la resolución del SLC y la neurotoxicidad hasta Grado 1 o mejor fue de 5 y 7 días, respectivamente. La mediana del tiempo hasta completar la resolución del SLC y la neurotoxicidad fue de 5 y 11 días, respectivamente. Los resultados fueron consistentes con la conclusión de que había una tasa baja de aparición temprana cualquier SLC o neurotoxicidad en los sujetos.

Ejemplo 1.B.2

El Ejemplo 1.B.2 describe la evaluación en el punto de tiempo en el Ejemplo 1.A.2. Hasta este punto de tiempo, los datos de acontecimientos adversos (AA) se recopilaron desde la reducción de linfocitos (LD) hasta 90 días después de la administración de linfocitos T que expresan CAR. En el segundo punto de tiempo, se evaluó la seguridad de 69 sujetos en la cohorte de LDLBG (cohorte completa), 38 que habían recibido dosis única de DL1, 25 habían recibido DL2 dosis única y 6 habían recibido DL1 dosis doble pautada. Los AADT más comunes distintos de SLC o NT incluyeron neutropenia (41 %, 28/69), fatiga (30 %, 21/69), trombocitopenia (30 %, 21/69) y anemia (26 %, 18/69). Se observó un AADT de Grado 5 de daño alveolar difuso.

No se observó toxicidad aguda por infusión y se observó que la mayoría de los sujetos de la cohorte completa, 64 % (44/69) no tenía SLC ni NT, lo que indica que puede ser posible la administración ambulatoria de linfocitos T que expresan CAR. Las tasas de toxicidades asociadas a los linfocitos T CAR, incluyendo SLC y NT, no difirieron entre los niveles de dosis. Se observó que el perfil de seguridad era similar en todas las cohortes y niveles de dosis. Entre los 25 sujetos de la cohorte completa (36 %) que experimentaron cualquier grado de SLC o NT, 21 (30 %) tenían SLC y 14 (20 %) NT. Ningún sujeto tuvo SLC de Grado 3 y solo uno (1 %, 1/69) tuvo SLC de Grado 4 y requirió atención en UCI; el otro 29 % (20/69) tenía SLC de grado 1-2. Del 20 % de sujetos con NT, el 6 % (4/69) tenía Grado 1-2 y el 14 % (10/69) tenía Grado 3-4; 2 (3 %) tuvieron convulsiones. No se observó SLC de Grado 5 o NT de Grado 5. No se observaron incidencias de edema cerebral. Todos los acontecimientos de SLC y NT se resolvieron excepto un caso de temblor de Grado 1, que estaba en curso en el momento del análisis. La mediana del tiempo hasta la aparición del primer SLC y NT fue de 5 días (intervalo 2, 12) y 10 días (intervalo 5, 23), respectivamente. En las primeras 72 horas después de la infusión, no se observó que ningún sujeto tuviera NT, y se observó que sólo el 10 % (7/69) tenía SLC (todos Grado 1); la NT fue precedida por SLC en >70 % de los sujetos. En general, trece (13) sujetos (19 %) requirieron intervención para SLC o NT con terapia anti-citocinas (tocilizumab solo 1 (1%), dexametasona sola 6 (9 %), o ambas 6 (9 %)) y sólo uno requirió soporte de vasopresor. La mediana de dosis de tocilizumab y dexametasona fueron 1 y 6, respectivamente. La mediana de duración de SLC y NT fue de 5 días y 11 días, respectivamente. El análisis de la cohorte central (n=49) también mostró tasas similares de SLC y NT.

En esta evaluación, se observaron bajas incidencias y apariciones tardías de SLC y/o NT, en ambos niveles de dosis, soportadas por la viabilidad de la infusión ambulatoria, como por ejemplo con el ingreso hospitalario ante el primer signo de fiebre o fiebre que dura más de un determinado período de tiempo. No se observó SLC de grado 5 ni NT de grado 5, y todos los SLC graves y NT graves se resolvieron. Además, aproximadamente 2 de cada 3 pacientes no tenían SLC o NT, apoyando que las células se pueden administrar de forma ambulatoria. En el momento de la evaluación en 1.B.2, cuatro sujetos habían sido tratados en el entorno ambulatorio. Además, no se observaron diferencias significativas en la toxicidad en sujetos que recibieron DL1 o DL2, lo que indica el logro de tasas de respuesta más altas sin un mayor riesgo de toxicidad o problemas de seguridad.

C. Resultados de la respuesta después del tratamiento

Los sujetos fueron monitoreados para determinar la respuesta, incluso mediante la evaluación de la carga tumoral 1, 3, 6, 7, 12, 18 y 24 meses después de la administración de los linfocitos T CAR$^+$.

Ejemplo 1.C.1

El Ejemplo 1.C.1 describe resultados basándose en el punto de tiempo de análisis en el Ejemplo 1.A.1 y 1.B.1.

Las tasas de respuesta se enumeran en la **Tabla E4.** Se observaron altas tasas de respuesta duradera en la cohorte de sujetos, que incluía sujetos muy pretratados o, con mal pronóstico y/o con enfermedad recurrente o resistente a tratamiento. Para sujetos de todas las dosis en la cohorte central (n = 44), la tasa de respuesta global observada (TRO) fue del 86 % y la tasa de respuesta completa observada (RC) fue del 59 %. A los tres meses para la cohorte central, la tasa de respuesta global (TRO) fue del 66 %; la tasa de RC a tres meses fue del 50 % entre la cohorte central. En la cohorte central, la TRO a 3 meses fue del 58 % (11/19) en el nivel de dosis 1 y del 78 % en el nivel de dosis 2; la tasa de RC a los 3 meses fue del 42 % (8/19) para el nivel de dosis 1 y del 56 % (5/9) para el nivel de dosis 2, consistente con un efecto dosis-respuesta sugerido sobre el resultado del tratamiento. Adicionalmente, los resultados fueron consistentes con una relación entre la dosis y la durabilidad de la respuesta.

Tabla E4. Respuesta								
	COMPLETA				CENTRAL			
	Todos los niveles de dosis	DL1S	DL2S	DL1D[c]	Todos los niveles de dosis	DL1S	DL2S	DL1D[a]
Mejor respuesta global, N	54	30	18	6	44	25	15	4
TRO, % (IC del 95 %)	76 (62, 87)	80 (61, 92)	72 (47, 90)	67 (23, 96)	86 (73, 95)	84 (64, 95)	87 (60, 98)	100 (40, 100)
RC, % (IC del 95 %)	52 (38, 66)	53 (34, 72)	50 (26, 74)	50 (12, 88)	59 (43, 74)	56 (35, 76)	60 (32, 84)	75 (19, 99)
b ≥ 3 meses f/u, n	41	24	11	6	32	19	9	4
TRO a los 3 meses, % (IC del 95 %)	51 35, 67)	46 (26, 67)	64 (31, 89)	50 (12, 88)	66 (47, 81)	58 (34, 80)	78 (40, 97)	75 (19, 99)
RC a los 3 meses % (IC del 95 %)	39 (24, 56)	33 (16, 55)	46 (17, 77)	50 (12, 88)	50 (32, 68)	42 (20, 67)	56 (21, 86)	75 (19, 99)
DL1S: DL1 esquema de 1 dosis; DL2S: DL2 esquema de 1 dosis; DL1D: DL1 esquema de 2 dosis; [a]Incluía pacientes con acontecimiento de PE, muerte, o exploraciones de reestadificación de 28 días. No se incluyeron los pacientes tratados 28 días antes de la instantánea de datos. [b]El denominador es el número de pacientes que recibieron la terapia de linfocitos T-CAR hace >_ 3 meses, antes de la evaluación de la fecha de la instantánea de datos en el mes 3 o evaluación previa de PE o muerte. [c]Incluye un paciente tratado con el esquema de 2 dosis de DL2 debido a un error de dosificación								

Las tasas de respuesta global entre diversos subgrupos de sujetos en las cohortes completa y central se muestran en la **FIG. 3A** y **3B,** respectivamente. En los subgrupos de LDLBG de alto riesgo, las tasas de respuesta fueron en general altas. Se observó una TRO superior al 50 % a los 3 meses en pacientes con subtipo molecular de doble/triple impacto, que tenían LDLBG primario resistente a tratamiento o resistente a quimioterapia o que nunca antes habían conseguido una RC. Se observó resolución completa de la afectación del SNC por linfoma en 2 pacientes.

Entre los sujetos tratados seis meses o más antes del punto de tiempo particular de la evaluación, de los diez (10) pacientes que habían estado en respuesta a los tres meses, 9 (90 %) permanecieron en respuesta a los seis meses. En el punto de tiempo de evaluación, el 97 % de los sujetos del subconjunto central que habían respondido estaban vivos y en seguimiento, mediana de seguimiento de 3,2 meses.

Los resultados para la duración de la respuesta y la supervivencia global (agrupados por mejor respuesta global (sujetos que no responden, RC/RP, RC y/o RP)) se muestran para cohortes completa y central de sujetos, En las **FIGS. 4A** y **4B,** respectivamente. Como se muestra, se observó una supervivencia prolongada en los sujetos que responden, con mayor durabilidad de la respuesta en sujetos con RC. Todos los pacientes que respondieron a los tres meses permanecían vivos en el momento de la evaluación, aunque 5/6 sujetos con mal estado funcional (ECOG 2) habían fallecido.

FIG. 8 muestra un gráfico que representa el tiempo sin progresión (meses) para sujetos individuales dentro de las cohortes completa y central. Cada barra representa un solo paciente. El sombreado indica la mejor respuesta global (en cada caso, a menos que se indique otra cosa, conseguida a 1 mes); la textura indica dosis (sólido = nivel de dosis 1, dosis única; canales cruzados, nivel de dosis 2, dosis única; rayado vertical = nivel de dosis 1, dos dosis). Las flechas horizontales indican una respuesta en curso. Inicialmente se evaluó que determinados sujetos individuales (p. ej., a 1 mes) presentaban cáncer estable (CE) o respuesta parcial (RP), y luego se observó que habían conseguido una RP (p. ej., conversión de CE en RP) o RC. En estos casos, sombreado de la barra de paciente individual, según se indica, indica la mejor respuesta global y puntos (la misma correspondencia de sombreado con la respuesta conseguida) a lo largo de cada barra de sujeto individual, indican cuando se observó cada CE, RP y/o RC que se habían producido en el sujeto.

En dos pacientes se observó una resolución completa de la afectación del SNC por linfoma. Se observó que las células CAR^+ en un sujeto se habían expandido después de una biopsia después de una recaída. El sujeto que mostró expansión después de la biopsia tenía LDLBG transformado resistente a quimioterapia (subtipo de centro germinal con un reordenamiento BCL2 y múltiples copias de *MYC* y *BCL6*). Al sujeto se le habían administrado los linfocitos T CAR^+ en DL-1 y el número de linfocitos T CD3+/CAR^+, $CD4^+$/CAR^+, $CD8^+$/CAR^+ en sangre periférica se midieron en determinados puntos de tiempo, se muestran en la **FIG. 6A.** El sujeto había sido tratado previamente con, y era resistente a, cinco líneas de terapia anteriores incluido el etopósido con dosis ajustada, doxorrubicina y ciclofosfamida con vincristina y prednisona más rituximab (DA-EPOCH-R) y alotrasplante de células madre de

intensidad intermedia de un donante no emparentado compatible con HLA 8/8. Después del alotrasplante de células madre y antes de recibir los linfocitos T CAR+, el sujeto mostró el 100 % de quimerismo de donante en todos los linajes sanguíneos, había dejado de tomar terapia inmunosupresora y no tenía enfermedad de injerto contra hospedador (EICH). Antes de la administración de linfocitos T CAR+, el sujeto tenía una masa periauricular y una lesión en el lóbulo temporal observada mediante tomografía por emisión de positrones y tomografía computarizada (TEP-TAC) **(FIG. 6B)** y confirmado por imagen por resonancia magnética (IRM) **(FIG. 6D).**

Después de recibir el tratamiento de linfocitos T-CAR anti-CD19, el sujeto consiguió RC 28 días después de la infusión, como se muestra por TEP-TAC **(FIG. 6C)** e IRM cerebral **(FIG. 6E),** sin signos observados de neurotoxicidad o SLC. Tres meses después de la infusión de los linfocitos T-CAR, en este sujeto se observó recaída de la masa periauricular **(FIG. 6F),** y se realizó una biopsia incisional. Como se muestra en la **FIG. 6A,** después de la biopsia, el tumor visible retrocedió sin terapia adicional. El análisis farmacocinético mostró una marcada reexpansión de los linfocitos T CAR+ en sangre periférica (a un nivel superior a la expansión inicial observada, con niveles máximos observados aproximadamente 113 días después de la infusión) i, que coincidió con la regresión del tumor. El sujeto luego pasó a conseguir una segunda RC, según lo confirmado mediante reestadificación por TEP-TAC un mes después de la biopsia **(FIG. 6G),** y permaneció en RC a los 6 meses después de la infusión de linfocitos T-CAR. Una evaluación adicional del sujeto mostró que la respuesta del SNC fue duradera y el sujeto permaneció en RC a los 12 meses.

Los resultados en el sujeto que recibió la biopsia seguida de la reexpansión observada de los linfocitos T CAR+ son consistentes con la conclusión de que la reexpansión y activación de los linfocitos T CAR+ pueden iniciarse *in vivo* tras la reducción o pérdida de los linfocitos T CAR+ funcionales o activos y/o recaída después de la respuesta antitumoral a la terapia de linfocitos T-CAR. Además, tras la reexpansión *in vivo* tarde después de la infusión inicial de linfocitos T CAR+, los linfocitos T CAR+ pueden volver a ejercer actividad antitumoral. Este resultado respalda que se puede desencadenar la reexpansión y activación de los linfocitos T CAR+ *in vivo* y que los métodos de reactivación de los linfocitos T CAR+, pueden aumentar aún más su eficacia.

Se observaron respuestas completas en los dos sujetos con LDLBG con afectación del SNC sin desarrollo de ningún grado de neurotoxicidad. Estos resultados son consistentes con la observación de que los linfocitos T CAR+ de las realizaciones proporcionadas en el presente documento son capaces de acceder fácilmente al SNC y ejercer una función efectora para reducir o eliminar tumores del SNC, sin aumentar o sin aumentar sustancialmente el riesgo de toxicidad tal como neurotoxicidad. En otros estudios, entre sujetos que tenían LLA tratada con linfocitos T CAR anti-CD 19, no se ha observado una correlación clara entre la incidencia de neurotoxicidad y la presencia de leucemia del SNC en el cerebro (que se ha observado que responde a dicha terapia de linfocitos T-CAR). Por lo tanto, considerando que en algunos contextos puede producirse neurotoxicidad tras el tratamiento con terapias de linfocitos T-CAR, dicha neurotoxicidad puede no ser necesariamente el resultado de la expresión objetivo en el cerebro o de la actividad de los linfocitos T CAR en el SNC, y puede no ser el resultado de una toxicidad "en el objetivo" por parte de los linfocitos T CAR+.

Ejemplo 1.C.2

El Ejemplo 1.C.2 describe resultados basándose en el punto de tiempo de análisis en el Ejemplo 1.A.2 y 1.B.2.

Hasta el punto de tiempo en el Ejemplo 1.C.2, se evaluó la respuesta de 68 sujetos en la cohorte completa de LDLBG. Las tasas de respuesta global u objetiva (RO), de respuesta objetiva a los 3 meses y a los 6 meses fueron del 75 % (51/68), 49 % (27/55) y 40 % (14/35), respectivamente. La tasa de respuesta completa (RC), la tasa de RC a los 3 meses y la tasa de RC a los 6 meses fueron del 56 % (38/68), 40 % (22/55) y 37 % (13/35), respectivamente. Se observó una tendencia hacia una mejor tasa de respuesta a los 3 meses en los sujetos tratados en DL2 en comparación con DL1: 63 % (12/19; IC del 95 %: 38, 84) frente al 40 % (12/30; IC 95 % 23, 59) para TRO con p=0,148 y 58 % (11/19; IC del 95 %: 34, 80) frente al 27% (8/30; IC del 95 %: 12, 46) para RC con p=0,0385. Entre 16 sujetos con linfoma de doble/triple impacto, la TRO fue del 81 % y la tasa de RC a los 3 meses fue del 60 %.

En la cohorte central (n=49 para el punto de tiempo en el Ejemplo 1.C.2), las tasas de RO, RO a los 3 meses y a los 6 meses fueron del 84 % (41/49), 65 % (26/40) y 57 % (13/23), respectivamente. La tasa de RC, la tasa de RC a los 3 meses y la tasa de RC a los 6 meses fueron del 61% (30/49), 53 % (21/40) y 52 % (12/23), respectivamente. Se observó una tendencia similar en la mejora de la TRO y la RC duraderas a los 3 meses con dosis más altas. Específicamente, para los pacientes de la cohorte CENTRAL a los que se les administró DL2, la TRO a los 3 meses fue del 80 % (12/15; IC del 95 %: 52, 96) y la RC a los 3 meses fue del 73 % (11/15; IC del 95 %: 45, 92), en comparación con tasas de TRO y RC a 3 meses del 52 % (11/21; IC 95 % 30, 74) y 33 % (7/21; IC del 95 %: 15, 57) en sujetos de la cohorte CENTRAL a los que se les administró DL1, con p=0,159 y p=0,0409, respectivamente. Entre los sujetos de la cohorte CENTRAL que recibieron DL2 y con un seguimiento de 3 meses (n = 15), la TRO a los 3 meses fue del 80 % y la RC a los 3 meses fue del 73 %.

La mediana de DR en la cohorte completa y en las cohortes centrales en este punto de tiempo en 1.C.2 fue de 5,0 y 9,2 meses, respectivamente; la mediana de duración de RC fue de 9,2 meses en la cohorte completa. La mediana de duración de RC no se había alcanzado en la cohorte central. La mediana de supervivencia global (SVG) fue de

13,7 meses en la cohorte completa y no se había conseguido en la cohorte central. La SVG a los 6 meses fue del 75 % en la cohorte completa, con mediana de seguimiento de 5,8 meses. La SVG a los 6 meses fue del 88 % en la cohorte central, con mediana de seguimiento de 5,6 meses.

D. Evaluación de linfocitos T CAR$^+$ en sangre

Basándose en los datos del punto de tiempo que se describe en el Ejemplo 1.A.1 1.B.1 y 1.C.1, se realizó un análisis farmacocinético para evaluar el número de linfocitos T CAR$^+$ en sangre periférica en diversos puntos de tiempo después del tratamiento. Los resultados de los cincuenta y cinco (55) sujetos evaluados en el punto de tiempo en el Ejemplo 1.A.1 en la cohorte LDLBG y cuatro (4) sujetos (evaluados en ese mismo punto de tiempo) en la cohorte de linfoma de células del manto (LCM), se analizaron como se describe en el Ejemplo 2 a continuación. Las mediciones de farmacocinética (PK) se llevaron a cabo mediante citometría de flujo validada para detectar un marcador expresado en la construcción CAR y ensayos cuantitativos basados en PCR para detectar la integración de la construcción CAR. La aplasia de linfocitos B se evaluó mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos anti-CD 19. Como se muestra en la **FIG. 5A,** las células que expresan CAR CD4$^+$ y CD8$^+$, como se miden por el número de células/µl de sangre (mediana ± cuartiles) trazado en una escala logarítmica, se detectaron durante el curso de la evaluación en ambos niveles de dosis administradas. Los sujetos que recibieron DL2 en relación con DL1 tuvieron una mediana de $C_{máx}$ más alta y mediana de ABC_{0-28} para los subconjuntos de linfocitos T CD3+/CAR$^+$, CD4$^+$/CAR$^+$y CD8$^+$/CAR$^+$ en sangre periférica (ABC_{0-28}: DL2 versus DL1 fue 1836 versus 461, 350 versus 182 y 1628 versus 114, para CD3$^+$, CD4$^+$ y CD8$^+$, respectivamente; $p < 0,05$ para CD8$^+$; $C_{máx}$: DL2 versus DL1 fue 99,8 versus 27,9, 15,1 versus 5,2 y 73,1 versus 5,5 células/µl, respectivamente). La mediana de tiempo hasta la expansión máxima de linfocitos T CD3$^+$ CAR$^+$ fue de 15 días (intervalo 8-29) y no difirió entre los niveles de dosis. Los linfocitos T que expresan CAR CD4$^+$ y CD8$^+$ se encontraban en la médula ósea en niveles relativamente similares.

Un aumento de la mediana del área bajo la curva (ABC) (número de linfocitos T CD8$^+$ CAR$^+$ a lo largo del tiempo en la sangre) se observó entre los sujetos a los que se les administró el nivel de dosis más alto, en comparación con el nivel de dosis más bajo, sin un aumento observado de la toxicidad. La exposición máxima de linfocitos T CD8$^+$/CAR$^+$ más alta se observó en los sujetos que responden (RC/RP) que en los sujetos que no responden (PE); persistencia de las células durante el tiempo de evaluación, incluyendo hasta 3 y 6 meses, se observó incluso en sujetos cuya enfermedad había progresado **(FIG. 5B).** La mediana de $C_{máx}$ y la mediana de ABC_{0-28} de linfocitos T CD8$^+$ CAR$^+$ fueron mayores en los sujetos que responden y con una respuesta duradera en el mes 3 (mediana de CD8$^+$ $C_{máx}$ = 20,8 frente a 5,5; mediana de CD8$^+$ ABC_{0-28} = 235 frente a 55 en RC/RP en el mes 3 frente a PE en el mes 3). Entre los sujetos que fueron evaluados para determinar la persistencia de linfocitos T-CAR, el 90 % y el 93 % de 29 sujetos tenían linfocitos T CAR$^+$ CD8$^+$ y CD4$^+$ detectables, respectivamente, en el mes 3; el 63% y el 58% de 19 sujetos tenían linfocitos T CAR$^+$ CD8$^+$ y CD4$^+$ detectables, respectivamente, en el mes 6. En los meses 3 y 6, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la persistencia de los linfocitos T CAR$^+$ entre sujetos con respuesta duradera o recaída. Los linfocitos T CAR$^+$ fueron detectables en el momento de la recaída en el 89 % de 11 sujetos con PK, a pesar de que se demostró aplasia de linfocitos B (<1 célula/µl) en casi todos los sujetos, 97 % (34/35) en el mes 3 y 100 % (24/24) en el mes 6.

No se observó que la $C_{máx}$ más alta y la ABC_{0-28} en DL2 en comparación con DL1 estuviera asociada a un aumento de SLC o NT. Para cualquier NT o para SLC > Grado 2, la mediana de ABC de linfocitos T CD4$^+$/CAR$^+$ y CD8$^+$/CAR$^+$ fueron de 5 a 10 veces y de 3 a 5 veces más altas, respectivamente, que la mediana de ABC para DL2. Se observó que una mayor carga de enfermedad y niveles iniciales de citocinas inflamatorias se asociaban con niveles máximos más altos de linfocitos T CAR$^+$, niveles máximos de citocinas más altos y mayor incidencia de SLC y NT. Los resultados fueron consistentes con la conclusión de que la mayor Cmáx y la mediana de ABC_{0-28} en DL2 no aumentó SLC o NT.

Los resultados fueron consistentes con la conclusión de que el tratamiento resultó en una exposición prolongada y persistencia de las células modificadas por ingeniería genética, incluso en sujetos con malas respuestas. En algunas realizaciones, se utilizan enfoques combinados, como la administración de un modulador de puntos de control inmunológico u otro agente modulador inmunológico, por ejemplo, después de una recaída o progresión de la enfermedad, en un momento en el que las células modificadas por ingeniería genética persisten en el sujeto, por ejemplo, como se mide por los niveles de células en la sangre periférica. En algunos aspectos, las células, que han persistido durante un periodo prolongado, se vuelven a expandir o vuelven a activarse y/o exhibir función antitumoral, después de la administración del otro agente o tratamiento. La mediana más alta del número de linfocitos T CAR$^+$CD4$^+$ y CD8$^+$ generalmente se observó a lo largo del tiempo en la sangre de sujetos que desarrollaron neurotoxicidad **(FIG. 5C).** Los resultados indicaron que los linfocitos T CAR$^+$ exhibieron expansión y persistencia, durabilidad de la respuesta a los 3 meses que aumentó a niveles de dosis más altos, sin aumento de la toxicidad. Se observaron resultados que eran consistentes con una sugerencia de que los niveles máximos altos de linfocitos T CAR$^+$ y las citocinas en la sangre pueden estar asociados con NT y SLC, y pueden verse influenciados por factores iniciales del sujeto. Se observó que los linfocitos T CAR$^+$ estaban presentes en el momento de la recaída, lo que indica que los enfoques combinados o de retratamiento pueden proporcionar ciertas ventajas.

E. Analitos sanguíneos y neurotoxicidad, SLC y respuesta

Diversos analitos de sangre previos al tratamiento, incluyendo las citocinas, se midieron en el suero de los sujetos (aquellos evaluados en el punto de tiempo en el Ejemplo 1.A.1), antes de la administración de los linfocitos T CAR$^+$. Las citocinas se midieron utilizando un ensayo de citocinas múltiple. Las posibles correlaciones con el riesgo de desarrollar neurotoxicidad se evaluaron mediante análisis estadístico basado en pruebas no paramétricas univariadas.

La **FIG. 7** muestra los niveles medianos de los analitos evaluados en unidades (LDH, U/l; ferritina, ng/ml; PCR, mg/l; citocinas, pg/ml) en sujetos que no desarrollaron neurotoxicidad versus sujetos que sí desarrollaron neurotoxicidad después de terapia de linfocitos T CAR$^+$. Se observó que los niveles de determinados analitos en sangre, incluyendo LDH, ferritina, PCR, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 y MIP-1β, estaban asociados al nivel de riesgo de desarrollar neurotoxicidad (valores de p de Wilcoxon <0,05, sin ajuste de multiplicidad). En particular, los resultados fueron consistentes con la conclusión de que los niveles previos al tratamiento de LDH, que en algunas realizaciones es un sustituto de la carga de enfermedad, puede ser útil para la evaluación del riesgo potencial de neurotoxicidad y/o la dosificación adaptada al riesgo o el ajuste del tratamiento de determinados sujetos. Además, la carga tumoral medida antes de la administración de la composición de linfocitos T-CAR se correlacionó (valores de p de Spearman <0,05) con el riesgo de desarrollar neurotoxicidad. En algunos aspectos, los niveles de LDH pueden evaluarse solos y/o en combinación con otro parámetro previo al tratamiento, como otra medida o indicador de la carga de enfermedad, como una medición volumétrica del tumor, como la suma de dimensiones del producto (SPD) u otra medición volumétrica de la carga de enfermedad basada en TAC o IRM. En algunos aspectos, se evalúan uno o más parámetros indicativos de la carga de enfermedad y, en algunos contextos, pueden indicar la presencia, ausencia o grado de riesgo de desarrollar neurotoxicidad después de la terapia de linfocitos T. En algunos aspectos, uno o más parámetros incluyen LDH y/o una medición volumétrica del tumor.

En un análisis adicional, cincuenta y cinco (55) sujetos en la cohorte de LDLBG en el punto de tiempo en el Ejemplo 1.A.1, y cuatro (4) sujetos en el linfoma de células del manto (LCM) descrito en el Ejemplo 2 a continuación se incluyeron en el análisis de correlación con evaluaciones de seguridad. En los 59 sujetos evaluados por seguridad, se observó SLC en el 32 % (30 % Grado 1-2, 0 % Grado 3, 2 % Grado 4); se observó NT en el 20 % (5 % Grado 1-2, 10 % Grado 3, 5 % Grado 4). El nivel de dosis no se correlacionó con SLC o NT (p=0,565 y p=1,00, respectivamente). Los factores de los sujetos que se correlacionan con cualquier grado de SLC y NT fueron un peor estado funcional (p. ej., estado ECOG 2) (p = 0,03) y una mayor carga de enfermedad (p <0,05) medida por la suma de los productos de diámetros (SPD) basándose en los resultados de imágenes. Los parámetros de laboratorio clínico previos a la infusión de linfocitos T CAR$^+$ y las mediciones de citocinas para la infusión previa de linfocitos T CAR$^+$ que se observó que estaba asociada a la aparición de NT de cualquier grado incluyó niveles más altos de LDH sérica, ferritina y PCR, y niveles más altos en plasma de IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-α2, MCP-1 y MIP-1β (p<0,05 para cada uno). Los niveles en plasma más altos previos a la infusión de linfocitos T CAR$^+$ de IL-8, IL-10 y CXCL10 también se asociaron con NT de Grado 3-4 (p<0,05 para cada uno).

De los 54 sujetos en la cohorte LDLBG que fueron evaluados para determinar la respuesta, las puntuaciones ECOG más altas y LDLBG transformado a partir de LLC o LZM se correlacionaron con una respuesta duradera más baja en el mes 3 (p = 0,02 para ambos). Los parámetros previos a la infusión de linfocitos T CAR$^+$ asociados a la mejor TRO incluyeron valores más bajos de ferritina, LDH, CXCL10, G-CSF e IL-10, y aquellos asociados a una respuesta duradera a los 3 meses incluyeron un nivel más bajo de ferritina, PCR, LDH, CXCL10, IL-8, IL-10, IL-15, MCP-1, MIP-1β, TNF-α y niveles más altos de hemoglobina y albúmina previas a la infusión de linfocitos T CAR$^+$ (p<0,05 para cada una).

En algunos casos, la muestra de aféresis y la composición de linfocitos T CAR$^+$ para la administración se evaluó y se correlacionó con los resultados clínicos. Los resultados mostraron que los subconjuntos de memoria de linfocitos T y la funcionalidad de linfocitos T pueden correlacionarse con determinados resultados clínicos.

Los resultados mostraron que determinadas características iniciales de los pacientes, incluyendo estado inflamatorio y alta carga tumoral antes del tratamiento, puede ser útil para la identificación de pacientes con riesgo de sufrir una mayor toxicidad después de la administración de linfocitos T que expresan CAR. Se observó que una carga tumoral baja y un estado inflamatorio bajo se asociaban a un perfil de toxicidad mejorado y una mayor durabilidad de la respuesta. Los resultados respaldan que tratar a los sujetos más temprano en el curso de la terapia y/o evaluar un panel de biomarcadores clínicos y de laboratorio para estratificar el riesgo de los sujetos para una posible intervención temprana puede mitigar el riesgo de toxicidad y mejorar la durabilidad de la respuesta.

Ejemplo 2 Administración de células que expresan CAR anti-CD19 a sujetos con linfoma de células del manto (LCM)

Las composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas que contienen linfocitos T CD4 y CD8 autólogos que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19, generadas como se describe en el Ejemplo 1, se administraron a sujetos humanos con linfoma de células del manto (LCM) que había fracasado (recurrente/resistente a tratamiento, R/R) después de ≥ 1 línea de terapia anterior. Los pacientes elegibles tenían LCM confirmado (expresión de ciclina D1 o evidencia de t[11;14]) con enfermedad R/R después de al menos 1 línea de terapia anterior. No se excluyó a ningún sujeto por un alotrasplante previo de células madre (TCM), afectación secundaria

del sistema nervioso central (SNC) y no se requirió un recuento absoluto mínimo de linfocitos (ALC) para la aféresis. Los sujetos tampoco fueron excluidos basándose en una puntuación ECOG de 2, que luego fue modificado para incluir también sujetos con una puntuación ECOG de 0-1. Se permitió la quimioterapia de transición durante la fabricación de la composición de linfocitos T.

Ejemplo 2.A

Las composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas que contienen linfocitos T autólogos que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19, generadas como se describe en el Ejemplo 1, se administraron a cuatro (4) sujetos humanos con linfoma de células del manto (LCM) que había fracasado en al menos 1 línea de terapia. Las composiciones celulares crioconservadas se descongelaron antes de la administración intravenosa. La composición terapéutica de linfocitos T se administró como un producto celular de composición definida con poblaciones formuladas de CD4$^+$ y CD8$^+$ de linfocitos T CAR$^+$ modificados genéticamente derivados del mismo sujeto administradas en una relación objetivo de aproximadamente 1:1. A los sujetos se les administró una dosis de linfocitos T que expresan CAR (como una dosis dividida o separada de linfocitos T que expresan CAR CD4$^+$ y CD8$^+$) en una dosis única de nivel de dosis 1 (DL1) que contiene 5 × 10^7 linfocitos T que expresan CAR. A partir de tres (3) días antes de la infusión de linfocitos T CAR$^+$, los sujetos recibieron una quimioterapia de reducción de linfocitos con fludarabina (flu, 30 mg/m^2) y ciclofosfamida (Cy, 300 mg/m^2).

Los sujetos se monitorearon para determinar la respuesta y las toxicidades como se describe en el Ejemplo 1. No se observó SLC o neurotoxicidad en ninguno de los sujetos. De los 4 sujetos que se trataron, dos (2) sujetos lograron RP (no duradera) y dos (2) pacientes tuvieron progresión de la enfermedad.

Ejemplo 2.B

La seguridad y eficacia se evaluaron en un momento posterior en el estudio clínico descrito en el Ejemplo 2.A para nueve (9) sujetos humanos con linfoma de células del manto (LCM) en los que había fracasado al menos 1 línea de terapia anterior. La mediana de edad fue de 66 años (intervalo 58-78), de los cuales 7 sujetos eran hombres. Las histologías incluyeron variantes blastoides (n = 3) y polimorfas (n = 1). Ocho (8) sujetos tenían Ki67 >30 % documentado (intervalo 40 %-80 %) y 1 sujeto tenía una mutación TP53. Los sujetos en este momento habían recibido una mediana de 5 (intervalo 3-7) terapias anteriores, incluidos 3 sujetos que habían recibido previamente un trasplante de células madre hematopoyéticas. Los 9 sujetos habían sido tratados previamente con ibrutinib, de los cuales 4 tuvieron una mejor respuesta de progresión de la enfermedad con ibrutinib. Seis de los nueve sujetos (67 %) recibieron quimioterapia de transición.

Después de recibir quimioterapia de reducción de linfocitos (LDC) como se describe en el Ejemplo 2.A, a los sujetos se les administró una dosis de linfocitos T que expresan CAR (mediante la administración separada de una dosis de linfocitos T que expresan CAR CD4$^+$ y CD8$^+$) en una dosis única de 5 × 10^7 linfocitos T que expresan CAR (DL1, aproximadamente 2,5 × 10^7 linfocitos T CD4+CAR+ y 2,5 × 10^7 linfocitos T CD8+ CAR+, 6 sujetos) generalmente como se describe en el Ejemplo 1.A, o en una dosis única de 1 × 10^8 linfocitos T que expresan CAR (DL2, aproximadamente 5 × 10^7 linfocitos T CD4+CAR+ y 5 × 10^7 linfocitos T CD8+ CAR+, 3 sujetos).

Cuatro (4) de los nueve sujetos (44 %) tuvieron acontecimientos adversos graves durante el tratamiento (AADT), 5 de los nueve sujetos (56 %) tenían AADT de grado (G) 3/4, principalmente anemia, neutropenia e hipofosfatemia (22 % cada uno), y 3 de los nueve sujetos (33 %) tenían síndrome de liberación de citocinas (SLC) de grado 1 (G1). La mediana de tiempo hasta la aparición de SLC fue 6 días (intervalo 2-7) y mediana de tiempo hasta la resolución fue 6 días (intervalo 2-6). Un (1) sujeto recibió tocilizumab y corticosteroides. No hubo acontecimientos neurológicos. Cuatro (4) sujetos de la cohorte DL1 murieron (3 por progresión de la enfermedad y 1 después de recibir una nueva terapia contra el cáncer después de la administración de la dosis de linfocitos T que expresan CAR anti-CD 19).

La tasa de respuesta global fue del 78 % (7 de 9 sujetos, incluidos 4 de los 6 sujetos en la cohorte DL1 (mediana de seguimiento de 12,4 meses [IC del 95 %: 9,2-12,4]) y los 3 sujetos de la cohorte DL2 (mediana de seguimiento de 1,4 meses [IC del 95 %: 1,0-1,4]). Dos (2) sujetos de la cohorte DL1 mantuvieron una RC duradera hasta el último seguimiento (día 281 y 378, respectivamente).

La mediana de tiempo hasta alcanzar el pico de expansión de los linfocitos T CAR+ fue de 9,5 días (intervalo 9-10) para DL1 y de 17,5 días (10-27) para DL2.

En conjunto, estos datos demuestran que la administración de la composición de linfocitos T terapéutica de linfocitos T CAR anti-CD19 a sujetos con LCM R/R, dio como resultado una toxicidad tolerable y una buena respuesta clínica.

Ejemplo 2.C

Los resultados de seguridad y respuesta se evaluaron en un momento posterior en el estudio clínico descrito en el Ejemplo 2.A para diecisiete (17) sujetos humanos con linfoma de células del manto (LCM) R/R en los que había fracasado ≥1 líneas de terapia anteriores. Los sujetos se monitorearon para determinar la respuesta y la seguridad

como se describe en el Ejemplo 1, incluso evaluando la eficacia según los criterios de Lugano y el grado de SLC y AN según los criterios de Lee et al. (2014) y CTCAE, versión 4.03, respectivamente. Los sujetos fueron monitoreados para detectar toxicidades limitantes de la dosis (TLD) durante 28 días y acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) durante 90 días después de la administración de la composición de linfocitos T terapéutica de linfocitos T-CAR anti-CD 19. Se utilizó el método de Kaplan-Meier para determinar la duración de la respuesta (DR), supervivencia global (SVG) y supervivencia sin progresión (SSP).

Las composiciones de linfocitos T terapéuticas se prepararon a partir de 25 sujetos como se describe en el Ejemplo 1 mediante enriquecimiento basado en inmunoafinidad (por ejemplo, selección inmunomagnética) de células $CD4^+$ y $CD8^+$ de muestras de leucocitaféresis de los sujetos individuales que se iban a tratar. Los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ aislados se activaron por separado y se transdujeron independientemente con un vector vírico (por ejemplo, vector lentivírico) que codificaba el CAR anti-CD 19, seguido de una expansión y una crioconservación separadas de las poblaciones de células modificadas por ingeniería genética en un volumen bajo. Antes de la administración de la composición de linfocitos T terapéutica, el tratamiento de 7 sujetos se interrumpió debido a la progresión de la enfermedad y la muerte (n = 3), ya no cumplieron con los criterios de inclusión debido a una neoplasia maligna secundaria (n = 1) o consiguieron RC durante la quimioterapia intermedia (n = 3).

Después de recibir quimioterapia de reducción de linfocitos (LDC) como se describe en el Ejemplo 2.A, a los sujetos restantes se les administró una dosis de linfocitos T que expresan CAR (mediante la administración separada de una dosis de linfocitos T que expresan CAR $CD4^+$ y $CD8^+$) en una dosis única de 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR (DL1, aproximadamente $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T CD4+CAR+ y $2{,}5 \times 10^7$ linfocitos T CD8+ CAR+, 6 sujetos) generalmente como se describe en el Ejemplo 1.A, o en una dosis única de 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR (DL2, aproximadamente 5×10^7 linfocitos T CD4+CAR+ y 5×10^7 linfocitos T CD8+ CAR+, 11 sujetos). Un sujeto adicional en el nivel de dosis 1 (DL1) recibió un producto de linfocitos T que expresa CAR no conforme con una viabilidad reducida de las células CAR+ CD8+ y demostró un alto índice de proliferación tumoral (Ki67 90 %); este sujeto no se incluyó en los análisis de seguridad y eficacia.

Los datos demográficos y características del sujeto de los sujetos tratados en este momento se exponen en la **Tabla E4.1.** En el punto de partida, la mayoría de los sujetos habían recibido múltiples líneas de terapia anterior, incluido ibrutinib, y la mayoría de los sujetos tenían factores de riesgo deficientes, incluidas variantes blastoides/polimorfas, mutación TP53 o Ki67 >30 %. Diez de los diecisiete sujetos (59 %) recibieron terapia anticancerígena de transición.

Tabla E4.1 Datos demográficos y características clínicas del sujeto al inicio

	DL1 (n=6)	DL2 (n=11)	Todos los sujetos (N = 17)
Edad, mediana (intervalo), años	67 (58-78)	66 (53-80)	66 (53-80)
Hombre, n	5	8	13 (76 %)
SPD (cm^2) antes de LDC; mediana (intervalo)	48 (2-80)	41 (0-210)[a]	41 (0-210)
LDH > 500 UI/ml (previo a LDC), n	3	1	4 (24 %)
Terapias anteriores; mediana (intervalo)	4 (3-6)	4 (1-8)	4 (1-8)
TCMH previo,[b] n	2	4	6 (35 %)
Ibrutinib anterior, n	6	10	16 (94 %)
Resistente a ibrutinib previo [c]	4	3	7 (41 %)
Venetoclax previo, n	0	2	2 (12 %)
Resistente a venetoclax previo[c]	NA	1	1 (6 %)
Ki67 >30 %, [d] n/N	6/6	7/9	13/15 (87 %)
mutación TP53, [d,e] n	1	0	1
Tipo de variante, [d] n			
Blastoide	3	1	4
Polimorfo	1	0	1
Enfermedad del SNC en el momento de la administración de linfocitos T que expresan CAR, n	0	1	1 (6 %)
Afectación previa de la médula ósea, [d, f] n	2/6	N/D	2/17 (33%)
Derrames pleurales previos, [d,g] n	1	5	6

(continuación)

Tabla E4.1 Datos demográficos y características clínicas del sujeto al inicio			
	DL1 (n=6)	**DL2 (n=11)**	**Todos los sujetos (N = 17)**
Quimioterapia de transición	4	6	10 (59 %)

[a] Un sujeto tenía una enfermedad no medible (foco esplénico, extraganglionar)
[b] Un sujeto recibió un TCMH alogénico.
[c] Resistente a tratamiento se definió como la mejor respuesta de la progresión de la enfermedad.
[d] Basado en la cantidad de sujetos con entradas de base de datos disponibles; los datos no estaban disponibles para todos los sujetos
[e] Este sujeto también tenía Ki67 del 40 %
[f] No capturado después de una enmienda al protocolo
[g] Los derrames pleurales solo se capturaron cuando se informaron como un acontecimiento adverso que comenzó antes de la administración de la composición de linfocitos T terapéuticos de linfocitos T-CAR anti-CD 19.
SNC, sistema nervioso central; DL, nivel de dosis; TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LDC, quimioterapia con reducción de linfocitos; LDH, lactato deshidrogenasa; NA, No aplicable; SPD, suma del producto de las dimensiones perpendiculares más largas.

A. Seguridad

Los acontecimientos adversos en esta población de sujetos en este punto de tiempo se establecen en la **Tabla E4.2.** Los acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) de grado 3 o 4 más comunes fueron citopenias. Un sujeto tuvo un AADT de daño alveolar de grado 5 el día 38 después de recibir una nueva terapia contra el cáncer (rituximab y lenalidomida) el día 31 después de la administración de linfocitos T que expresan CAR, y se consideró que no estaba relacionado con la dosis de linfocitos T que expresan CAR. Una toxicidad limitante de dosis (TLD) del síndrome de lisis tumoral de grado 5 ocurrió entre los días 10-12 en un sujeto que recibió la administración de linfocitos T que expresan CAR en DL2. Este sujeto tenía una alta carga tumoral, suma del producto de las dimensiones perpendiculares más largas de 210 cm^2, derrame pleural, infiltración de médula ósea y afectación gástrica. El sujeto rechazó la intubación y luego falleció.

Tabla E4.2 Acontecimientos adversos durante el tratamiento			
	DL1 (n = 6)	DL2 (n = 11)	Todos los sujetos (N = 17)
Todos los AADT	6	11	17 (100 %)
AADT de Grado 3 o 4	4	9	13 (76 %)
AADT de Grado 5[a]	0	1	1 (6 %)
AADT graves	3	7	10 (59 %)
AADT de grado 3 o 4 más comunes			
Trombocitopenia	1	6	7 (41 %)
Anemia	2	4	6 (35 %)
Neutropenia	2	4	6 (35 %)
TLD[b]	0	1	1 (6 %)

[a] Un sujeto tenía TLD de grado 5 de síndrome de lisis tumoral. El sujeto rechazó la intubación y luego falleció. DL, nivel de dosis; TLD, Toxicidad limitante de la dosis; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.

Como se muestra en la **Tabla E4.3**, se observó SLC grave (grado 4) en un sujeto tratado en DL2. AN, incluyendo AN graves en 2 sujetos, ocurrió en sujetos tratados en DL2. El sujeto que recibió un producto no conforme no experimentó SLC o AN.

Tabla E4.3 Acontecimientos adversos de interés específico			
	DL1 (n = 6)	**DL2 (n = 11)**	**Todos los sujetos (N = 17)**
SLC de cualquier grado, n	1	6	7 (41 %)
SLC de Grado 3 o 4	0	1	1 (6 %)
Mediana de tiempo hasta la aparición, días (intervalo)	6 (6-6)	7 (2-10)	7 (2-10)
Mediana de tiempo hasta la resolución, días (intervalo)	2 (2-2)	5 (2-8)	4 (2-8)
AN de cualquier grado, n	0	3	3 (18 %)
AN de Grado 3 o 4	0	2	2 (12 %)
Mediana de tiempo hasta la aparición, días (intervalo)	NA	9 (7-25)	9 (7-25)
Mediana de tiempo hasta la resolución, días (intervalo)	NA	3 (1-3)	3 (1-3)
Uso de tocilizumab, n	0	3	3 (18 %)
Uso de corticosteroides, n	0	3	3 (18 %)

SLC, síndrome de liberación de citocinas; DL, nivel de dosis; NA, no aplicable; AN, acontecimiento neurológico; NI, no informado.

B. Respuesta

Las tasas de respuesta global para los sujetos de esta población en este punto de tiempo se establecen en la **Tabla E4.4.** Siete sujetos tenían RC en curso en el último punto de tiempo evaluado en este estudio: un sujeto hasta el día 365 y un sujeto hasta el día 545 en DL1, y dos sujetos hasta el día 180 y tres sujetos hasta el día 90 en DL2. La mediana de tiempo hasta la respuesta completa (RC) fue de 1 mes y la mediana de duración de la respuesta (DR) aún no se ha alcanzado en este punto de tiempo del estudio clínico (intervalo observado 1,0-16,2+). En DL1, los sujetos mantuvieron la respuesta hasta el último punto de tiempo de la evaluación (día 545) y en DL2 los sujetos mantuvieron la respuesta hasta el día 180. De los 17 sujetos, 5 no respondieron al tratamiento: 1 sujeto con afectación secundaria del sistema nervioso central (SNC) no respondió (enfermedad estable el día 29). Dos sujetos tenían enfermedad del sistema nervioso central (SNC) en recaída: 1 sujeto tenía enfermedad del SNC y sistémica el día 90 y 1 sujeto tenía enfermedad del SNC aislada el día 180.

Tabla E4.4 Tasas de respuesta global

	DL1[a] (n = 6)	**DL2 (n = 11)**	**Todos los sujetos (N = 17)**
Mejor TRO, n (%)	4 (67)	8 (73)	12 (71)
Mejor RC, n (%)	2 (33)	7 (64)	9 (53)
Mediana de tiempo (intervalo) hasta RC, meses	3,6 (1-6,3)	0,9 (0,9-4,9)	1 (0,9-6,3)
Mediana de SSP (intervalo), meses	2,6 (0,7-18,2+)	5,8 (0,4-6,0+)	5,8 (0,4-18,2+)
Mediana de SVG (intervalo), meses	10,9 (1,2-18,2+)	NA (0,4-9,2+)	11,1 (0,4-18,2+)
Mediana de seguimiento (intervalo), meses	18,0 (1,2-18,2+)	6,2 (0,4-9,2+)	8,4 (0,4-18,2+)

RC, respuesta completa; DL, nivel de dosis; NA, no alcanzado; TRO, Tasa de respuesta global; SVG, supervivencia global; SSP, supervivencia sin progresión. + Indica respuesta en curso o supervivencia.

La expansión de los linfocitos T CAR por nivel de dosis se muestra en la **FIG. 39.** Los parámetros farmacocinéticos (PK) de 2 sujetos no se calcularon porque el último momento de muestreo de PK fue antes del día 29. Los resultados muestran una mayor expansión celular en DL2. Sin querer limitarse a ninguna teoría, esta mayor expansión en DL2 puede estar asociada a un aumento de SLC y AN observados a este nivel de dosis; sin embargo, esta observación se basa en un pequeño número de sujetos.

En conjunto, estos datos son consistentes con la observación de que la administración de la composición de linfocitos T terapéutica de linfocitos T-CAR anti-CD 19 a sujetos con LCM R/R, dio como resultado toxicidad tolerable, incluyendo una baja incidencia de SLC y AN de grado 3 o 4. La incidencia de SLC y AN fue similar a la observada en el estudio descrito en el Ejemplo 6 en sujetos (n=102) con LNH de linfocitos B agresivo que habían sido tratados con una composición de linfocitos T CAR anti-CD19 similar, en la que el 1% desarrolló SLC grado 3/4 y el 13 % AN grado 3/4 (véase la Tabla E19). Los resultados también mostraron tasas de respuesta favorables en sujetos con LCM R/R, incluyendo una mejor TRO del 71 % y una tasa de RC del 53 % en el punto de tiempo de este estudio. En este punto de tiempo, 7 sujetos (41 %) están en RC en curso y aún no se ha alcanzado la duración media de RC.

Ejemplo 3 Evaluación adicional de la Respuesta, Seguridad, Farmacocinética, Farmacodinámica y analitos sanguíneos en sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento después de la administración de células que expresan CAR anti-CD19

Se evaluaron los resultados de respuesta, los resultados de seguridad, los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos y los analitos sanguíneos en pacientes en un punto posterior en el tiempo en el estudio clínico que se describe en el Ejemplo 1 anterior.

A. Sujetos y Tratamiento

El análisis en este punto de tiempo presentado en este ejemplo se basa en la evaluación de un total de 91 sujetos en la cohorte LDLBG completa (88 (65 de la cohorte CENTRAL) evaluados para determinar la respuesta y 91 (67 de la cohorte CENTRAL) evaluados para determinar la seguridad) a los que se les habían administrado las células que expresan CAR anti-CD 19. La cohorte COMPLETA incluyó LDLBG, NOS de novo y transformado a partir de cualquier linfoma indolente, ECOG 0-2; la cohorte CENTRAL para el análisis incluyó sujetos con LDLBG, NOS y transformado a partir de linfoma folicular (LFt) o linfoma de linfocitos B de alto grado y con un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 0 o 1. Aproximadamente el 90 % de los pacientes tratados en la cohorte CENTRAL tenían al menos 1 característica de enfermedad de bajo riesgo que predecía una mediana de supervivencia global (SVG) corta de 3-6 meses, como expresores de doble/triple impacto, enfermedad primaria resistente a tratamiento, resistente a tratamiento a 2 o más líneas de terapia, nunca consiguieron RC o nunca recibieron trasplante de células madre autólogo (TCMA). También se incluyeron en el estudio sujetos con LCM después de 1 línea de terapia. En algunas realizaciones, una cohorte de sujetos que tienen linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) no especificado de otra manera (NOS; de novo y transformado a partir de linfoma

folicular (LFt) o linfoma de linfocitos B de alto grado, con reordenamientos MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología LDLBG, y excluyendo sujetos con puntuación ECOG de 2 o sujetos que hayan recibido previamente un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH), se administran composiciones de T-CAR como se proporciona en el presente documento. En algunas realizaciones, a los sujetos de la cohorte CENTRAL se les administra linfocitos T CAR^+ anti-CD19 en una dosis única de DL2 (1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales).

En este punto de tiempo, un total de 140 sujetos se habían sometido a leucocitaféresis, de los cuales 10 estaban a la espera de composición fabricada, 2 se habían retirado antes de la fabricación y 2 tenían composiciones no disponibles. De otros 18 sujetos cuyos productos estaban disponibles, 4 estaban esperando tratamiento, 4 se habían retirado y 10 habían desarrollado una enfermedad progresiva o habían muerto. A un total de 108 sujetos se les habían administrado las células que expresan CAR anti-CD 19, de los cuales 6 no fueron evaluables y 11 recibieron células que expresan CAR anti-CD 19 no conformes (composiciones que no necesariamente cumplen con ciertas especificaciones pero se consideran seguras para la administración). Los sujetos habían recibido DL1 (n=45), dosis doble de DL1 (n=6) o DL2 (n=40). A seis (6) sujetos con linfoma de células del manto (LCM) se les habían administrado células CAR^+ en DL1 (cinco tratadas con producto conforme, una tratada con producto no conforme) y cinco (5) habían completado 28 días de seguimiento. Un sujeto con LCM había desarrollado SLC y ninguno había recibido tocilizumab o dexametasona. El producto estuvo disponible para el 98 % de los sujetos sometidos a aféresis (126/128) en la cohorte de LDCBG.

Los sujetos en este punto de tiempo incluyeron 5 pacientes que habían sido tratados en el entorno ambulatorio (incluidos cuatro (4) sujetos tratados con DL1, uno (1) tratado con DL2; cuatro (4) de los cuales se incluyeron en la cohorte CENTRAL). Para sujetos tratados en el entorno ambulatorio, la mediana de edad era 57 años (intervalo 26-61), 3 tenían LDLBG, NOS, 1 tenía LFt y 1 tenía LLBMP. Los cinco (5) sujetos obtuvieron puntuaciones ECOG de 0 o 1. Los datos sobre resultados de pacientes ambulatorios incluyeron resultados de tres (3) sujetos adicionales que habían sido tratados en el entorno ambulatorio (un total de ocho (8) sujetos) y cuyos datos estuvieron disponibles después del punto de tiempo del análisis en este Ejemplo.

Los datos demográficos y características de referencia de los sujetos de la cohorte completa y central en el punto de tiempo se exponen en la **Tabla E5.**

TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LD, reducción de linfocitos.

Tabla E5. Características de los pacientes: Cohorte de LDLBG

Característica	**COMPLETA (n = 91)**	**CENTRAL (n = 67)**
Mediana de edad, años (intervalo),	61 (20-82)	60 (20-82)
≥ 65 años, n (%)	34 (37)	24 (36)
Hombre/mujer, n (%)	61/30 (67/33)	46/21 (69/31)
Subtipo de LNH-B, n (%)		
LDLBG, NOS de novo	59 (65)	51 (76)
Transformado a partir de LF (LFt)	19 (21)	16 (24)
Transformado a partir de LZM (LZMt) /LLC (LLCt)	6 (7) / 4 (4)	0
Folicular, Grado 3B/LLBMP	1 (1) /2 (2)	0
Subtipo molecular, n (%)		
Doble/triple impacto [linfoma de linfocitos B de alto grado][a]	18 (20)	16 (24)
Características del paciente, n (%)		
Resistente a quimioterapia[b]	61 (67)	44 (66)
ECOG PS 0-1/2 (pre-LD)	81 (89) / 10 (11)	67 (100) /0
IPI 3-5 / Estadio de la enfermedad 3-4	38 (42) / 70 (77)	24 (36) / 49 (73)
Afectación del sistema nervioso central	2 (2)	2 (3)
Líneas de terapia anteriores, mediana (intervalo)	3 (1-12)	3 (1-8)
Nunca consiguió RC	47 (52)	34 (51)
Cualquier TCMH	39 (43)	28 (42)
Autólogo previo	36 (40)	28 (42)
Alogénico previo	5 (5)	0

[a] Al inicio del ensayo, incluido en LDLBG, histología NOS; basado en los criterios más recientes de la OMS (Swerdlow et al., (2016) Blood 127(20):2375-2390), ahora se consideran "linfoma de linfocitos B de alto grado", con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología de LDLBG (doble/triple impacto).
[b]CE o PE hasta el último régimen que contiene quimioterapia o recaída <12 meses después del TCM autólogo.

B. Resultados de seguridad y respuesta después del tratamiento

Como se muestra en la **Tabla E6**, la tasa de respuesta objetiva (TRO) fue del 74 %, incluyendo un 52 % de sujetos que mostraron una respuesta completa (RC). La incidencia de cualquier grado de síndrome de liberación de citocinas (SLC) fue del 35 %, con 1 % de SLC grave; y la incidencia de cualquier grado de neurotoxicidad (NT) fue

del 19 %, con 1 % de NT grave.

Tabla E6. Respuesta y seguridad después de la administración de células CAR+				
	COMPLETA	CENTRAL		
	Todos los niveles de dosis	Todos los niveles de dosis[a]	DL1S	DL2S
Mejor respuesta global (MRG), n[b]	88	65	34	27
TRO, % (IC del 95 %)	74 (63,83)	80(68, 89)	77 (59,89)	82 (62, 94)
RC, % (IC del 95 %)	52 (41,63)	55(43, 68)	47 (30, 65)	63 (42, 81)
Seguridad, n[c]	91	67	34	29
Cualquier SLC, % (IC del 95 %)	35 (25, 46)	36 (24, 48)	41 (25, 59)	24 (10, 44)
SLCg (grado 3-4), % (IC del 95 %)	1 (0, 6)	1 (0, 8)	38 (0, 15)	0
Cualquier NT, % (IC del 95 %)	19 (11,28)	21 (12, 33)	24 (11, 41)	17 (6, 36)
NTg (grado 3-4), % (IC del 95 %)	12 (6, 21)	15 (7, 26)	21 (9, 38)	7 (1, 23)
[a] Cuatro pacientes tratados con DL1D (nivel de dosis 1, esquema de dos dosis) con resultados similares. [b]Incluye pacientes con acontecimiento de PE, muerte, o exploraciones de reestadificación de 28 días. Un paciente no tenía exploraciones de reestadificación disponibles. [c] Incluye todos los sujetos que recibieron al menos una dosis de un producto de células que expresan CAR conforme 28 días antes de la fecha de la instantánea de los datos o que fallecieron.				

Como se muestra en la **Tabla E7,** se observaron altas tasas de respuesta y baja toxicidad grave en la población de LDLBG completa.

Tabla E7. Respuesta después de la administración de células CAR+					
		Por diagnóstico			
	COMPLETA	LDLBG, NOS	LFt	LLCt/LZM	LF3B/LLBMP
MRG, n[a]	88	57	19	10	2
TRO, % (IC del 95 %)	74 (63,83)	74 (60, 85)	84 (60, 97)	50 (19, 81)	100 (16, 100)
RC, % (IC del 95 %)	52 (41,63)	51 (37,64)	63 (38, 84)	30 (7, 65)	100 (16, 100)
Seguridad, n[b]	91	59	19	10	3
Cualquier SLC, % (IC del 95 %)	35 (25, 46)	34 (22, 47)	42 (20, 67)	20 (3, 56)	67 (9, 99)
SLCg (grado 3-4), % (IC del 95 %)	1 (0, 6)	2 (0, 9)	0	0	0
Cualquier NT, % (IC del 95 %)	19 (11,28)	20 (11, 33)	21 (6, 46)	10 (0, 45)	0
NTg (grado 3-4), % (IC del 95 %)	12 (6, 21)	14 (6, 25)	11 (1, 33)	10 (0, 45)	0
[a]Incluye pacientes con acontecimiento de PE, muerte, o exploraciones de reestadificación de 28 días. Un paciente no tenía exploraciones de reestadificación disponibles. [b] Incluye todos los sujetos que han recibido al menos una dosis de células que expresan CAR+ conforme 28 días antes de la fecha de la instantánea de datos o murieron.					

Como se muestra en la **Tabla E8,** se observó una alta tasa de respuesta y una respuesta dependiente de la dosis en la cohorte CENTRAL de sujetos.

Tabla E8. Respuesta duradera después de administración de células CAR+			
	Nivel de dosis[a]	DL1S	DL2S
MRG, n[b]	65	34	27
TRO (IC del 95 %), %	80(68, 89)	77 (59,89)	82 (62, 94)
RC (IC del 95%), %	55(43, 68)	47 (30, 65)	63 (42, 81)
≥ 3 meses f/u, n[c]	52	29	19
TRO a 3 meses (IC del 95 %), %	65 (51,78)	59 (39, 77)	74 (49, 91)
RC a 3 meses (IC del 95 %), %	54(40, 68)	41 (24,61)	68 (43, 87)
≥ 6 meses f/u, n"	38	20	14
TRO a 6 meses (IC del 95 %), %	47(31, 64)	40 (19, 64)	50 (23, 77)
RC a 6 meses (IC del 95 %), %	42 (26, 59)	30 (12, 54)	50 (23, 77)
[a] Cuatro pacientes (CENTRAL) tratados con DL1D con resultados similares. [b]Incluye pacientes con acontecimiento de PE, muerte, o exploraciones de reestadificación de 28 días. Un paciente no tenía exploraciones de reestadificación disponibles. [c] El denominador es el número de pacientes que recibieron células CAR+ hace ≥ 3 meses, antes de la fecha de la instantánea de datos, con evaluación de eficacia al mes 3 o evaluación previa de PE o muerte. [d] El denominador es el número de pacientes que recibieron células CAR+ hace ≥ 6 meses, antes de la fecha de la instantánea de datos, con evaluación de eficacia al mes 6 o evaluación previa de PE o muerte.			

Las tasas de respuesta objetiva (TRO) a los tres meses entre diversos subgrupos de sujetos en los subgrupos de LDLBG de bajo riesgo, que incluía todos los pacientes con LDLBG tratados con todos los niveles de dosis en la

cohorte central, se muestran en la **FIG. 22.** Los resultados mostraron una TRO alta y duradera en el subgrupo de LDLBG de bajo riesgo.

Los resultados para la duración de la respuesta (DR) y la supervivencia global (agrupados por mejor respuesta global (sujetos que no responden, RC/RP, RC y/o RP)) se muestran para la cohorte completa y la cohorte central de sujetos, en las **FIGS. 23A-23D.** Los resultados también mostraron que el 80 % (16/20) de los sujetos con una RC a los 3 meses permanecen en RC a los 6 meses, y el 92 % (11/12) de los sujetos con una respuesta (RC o RP) a los 6 meses continúan mostrando una respuesta a más largo plazo.

La **FIG. 24** representa el porcentaje de sujetos en este punto de tiempo que se observó que habían experimentado alteraciones de laboratorio y acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) (no se incluyen los datos de 5 pacientes con LCM tratados con el producto conforme en DL1 con al menos 28 días de seguimiento). Además de los AADT mostrados en la **FIG. 24,** se observaron los siguientes términos de acontecimientos en Grado 3-4 en ≥5 % de los pacientes: encefalopatía (8 %), pancitopenia (5 %) y neutropenia febril (7 %). Ocho pacientes (9 %) tuvieron toxicidad por infusión, definido como AA el día de la administración relacionado con administración de células CAR^+, incluyendo enrojecimiento, cefalea, fiebre, fiebre, escalofríos, tiritera, vómitos, erupciones, habones, prurito, hipotensión, respiración sibilante, broncoespasmo, dificultad para respirar, náuseas, vómitos, dolor de espalda, tos y reacciones relacionadas con la infusión. Los acontecimientos incluyeron escalofríos (2), pirexia (5), enrojecimiento (1), dolor de cabeza (1), hipotensión (1), reacción relacionada con la infusión (1), erupción cutánea (1), prurito (1) y vómitos (1) con 6 acontecimientos de grado 1, 1 acontecimiento de grado 2 (escalofríos) y 1 acontecimiento de grado 3 (hipotensión). Los AADT en la cohorte central no difirieron sustancialmente de los de la cohorte completa. Los AADT relacionados más comunes en los sujetos tratados en el grupo de entorno ambulatorio fueron SLC, hipotensión, vómitos, anemia y disnea.

La **Tabla E9** expone los AADT y la neurotoxicidad que ocurrieron en el 25 por ciento o más de los sujetos en la cohorte COMPLETA o CENTRAL, para sujetos que recibieron DL1S y DL2S. No se observó una relación aparente entre dosis y toxicidad en la población con LDLBG.

Tabla E9. AADT ≥25 % en la cohorte COMPLETA, cohorte CENTRAL y cohorte CENTRAL por nivel de dosis.

Term, n (%)	COMPLETA (N = 91)	CENTRAL[a] (n = 67)	CORE DL1S (n = 34)	CORE DL2S (n = 29)
	85 (93)	63 (94)	33 (97)	26 (90)
Anemia[b]	64 (70)	48 (72)	28 (82)	19 (66)
Trombocitopenia[b]	48 (53)	41 (61)	20 (59)	19 (66)
Fatiga	34 (37)	25 (37)	11 (32)	12 (41)
SLC	32 (35)	24 (36)	14 (41)	7 (24)
Náuseas	25 (27)	19 (28)	12 (35)	5 (17)
Diarrea	23 (25)	16 (24)	7 (21)	7 (24)

a Incluye 4 pacientes tratados con el nivel de dosis 1, esquema de dos dosis.
b Alteraciones de laboratorio.

La **FIG. 25** representa el número y porcentaje de sujetos que se observó que tenían SLC y/o NT en diversos puntos de tiempo después de la administración de células CAR^+. En esta evaluación, se observó que la mediana de tiempo hasta la aparición del primer acontecimiento de SLC o NT fue de 5 (intervalo 1-14) o 10 (intervalo 3-23) días, respectivamente. Dentro de las primeras 72 horas después de la administración de células CAR^+, 1 paciente tenía NT (grado 1), y sólo el 14 % (13 de 91) tenía SLC (7 grado 1; 6 grado 2). La mediana de duración (Q1, Q3) de SLC o NT fue de 5 (4, 8) o 10,5 (7, 19) días, respectivamente. La NT fue precedida por SLC en 12 de 17 casos (71 %). Todos los acontecimientos de NT evaluables se resolvieron en el momento del análisis, excepto un temblor de grado 1 y 2 pacientes murieron por progresión de la enfermedad con NT en curso (según la base de datos de seguridad de acontecimientos informados que incluyen sujetos adicionales analizados después del punto de tiempo del análisis descrito en este ejemplo).

En la cohorte completa (n = 91), a los sujetos seleccionados con aparición de SLC o NT se les administró terapia anticitocinas con tocilizumab y/o dexametasona de la siguiente manera: Tocilizumab solo, 4 % (n = 4); Dexametasona sola, 9 % (n = 8); Tocilizumab y dexametasona, 8 % (n = 7). La mediana del número de dosis de dexametasona fue 6 (intervalo, 2-99); y la mediana del número de dosis de tocilizumab fue 1 (intervalo, 1-3).

La **Tabla E10** muestra los resultados de toxicidad en sujetos de la cohorte CENTRAL que recibieron una dosis única en DL1 o DL2. No se produjeron muertes por SLC o NT. La mediana de tiempo hasta la aparición de SLC fue de 5 días (intervalo, 2-14) y de NT fue de 11,5 días (intervalo, 5-23). En la cohorte CENTRAL, el 13 % (n = 9) recibió tocilizumab y el 18 % (n = 12) recibió dexametasona para mejorar la toxicidad. El dieciocho por ciento de los sujetos (12 de 67) exhibieron términos de neurotoxicidad consistentes con encefalopatía, incluyendo encefalopatía (13 %), el 6 % (4 de 67) tenía afasia y el 3 % (2 de 67) tenía convulsiones. En la **Tabla E10**, el número de sujetos o % del total de sujetos (paréntesis) que exhiben un resultado de toxicidad indicado se muestra en todos los niveles de dosis o específicamente en sujetos a los que se les administró DL1 o DL2. También se muestra entre paréntesis el intervalo

de confianza superior e inferior al 95 %.

Tabla E10. Toxicidad en la cohorte central que recibió diferentes niveles de dosis.			
	Todos los niveles de dosis[a] n = 67	**DL1S n = 34**	**DL2S n = 29**
SLC, n (%) [IC del 95 %]			
Cualquier grado	14 (21) [12, 33]	8 (24) [11, 41]	5 (17) [6, 36]
Grado ½	4 (6) [2, 15]	1 (3) [0, 15]	3 (10) [2, 27]
Grado 3/4 (NTg)	10 (15) [7, 26]	7 (21) [9, 38]	2 (7) [1, 23]
Neurotoxicidad[b], n (%) [IC del 95 %]			
Cualquier grado	24 (36) [24, 48]	14 (41) [25, 59]	7 (24) [10, 44]
Grado ½	23 (34) [23, 47]	13 (38) [22,56]	7 (24) [10, 44]
Grado 3/4 (SLCg)	1 (1) [0, 8]	1 (3) [0, 15]	0
Cualquiera, n (%) [IC del 95 %]			
SLC o NT, n (%)	28 (42) [30, 54]	15 (44) [27, 62]	10 (34) [18, 54]
SLCg o NTg, n (%)	10 (15) [7, 26]	7 (21) [9, 38]	2 (7) [1, 23]

[a] Cuatro pacientes tratados con DL1D con resultados similares.
[b] Incluye estado de confusión, encefalopatía, afasia, ataxia, síndrome cerebeloso, delirios, nivel de conciencia deprimido, mareos, afectación plana, coordinación mano-ojo deteriorada, deterioro de la memoria, temblor, agitación, alteración en la atención, disartria, cambios del estado mental, debilidad muscular, crisis epiléptica, somnolencia e incontinencia urinaria.

Entre doce (12) sujetos que recibieron productos no conformes, 10 en DL1 y 2 en DL2, todos tuvieron un seguimiento de 28 días. Se observó SLC en el 33 % de los sujetos (4/12) y no se observó NT en ninguno de los sujetos. Dos sujetos recibieron tocilizumab y 3 sujetos recibieron dexametasona. Las tasas de toxicidad fueron comparables a las observadas en la cohorte más grande de sujetos a los que se les administró el producto conforme. En los sujetos que reciben productos no conformes, la expansión farmacocinética (PK) fue mayor en sujetos con SLC/NT, sujetos con alta carga tumoral o niveles de LDH.

C. Evaluación de la administración ambulatoria

En este punto de tiempo se evaluaron los datos de un total de ocho (8) sujetos que habían sido tratados en el entorno ambulatorio (edad media de 58,5 años y ECOG de 0 o 1) en múltiples centros clínicos, incluidos 3 sujetos cuyos datos estaban disponibles después del punto de tiempo analizado para los fines de este ejemplo. La duración media de la hospitalización fue de 15,6 días para los sujetos tratados en el entorno hospitalario (CE 9,6, n = 86) y de 9,3 días para los sujetos tratados en el entorno ambulatorio (CE 11,9, n = 8). Se observó una reducción del 40 % en la duración de la hospitalización en los sujetos tratados en el entorno ambulatorio. La mediana del número de días antes de la hospitalización después de la administración de linfocitos T CAR$^+$ ambulatoria fue de 5 días (intervalo: 4-22). Ninguno requirió ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) después de la administración ambulatoria.

Entre los de los 8 sujetos tratados en el entorno ambulatorio con un seguimiento posterior a la administración de más de 28 días, 1 permaneció ambulatorio durante todo el período de toxicidad limitante de la dosis. Siete (7) pacientes ingresaron con fiebre (1 el día 4 del estudio, el resto el día ≥ 5 del estudio), 6 pacientes ingresaron con SLC (4 grado 1, 2 grado 2) y 2 pacientes con NT grado 1. Ningún paciente experimentó SCL o NT grave. Un (1) paciente fue tratado con tocilizumab sin dexametasona para SLC (grado 2) y ningún paciente fue tratado con dexametasona para SLC o NT. Un paciente ingresó 3 días después de la administración de linfocitos T CAR$^+$.

Entre 91 sujetos tratados en entornos hospitalarios y ambulatorios, 11 sujetos (12 %) requirieron ingreso en la UCI para el tratamiento de la toxicidad; 8 sujetos (9 %) requirieron ingreso en la UCI para el tratamiento de SLC o NT; 2 sujetos (2 %) requirieron ingreso en la UCI para el tratamiento de acontecimientos respiratorios agudos (uno relacionado con la administración de linfocitos T CAR$^+$, uno no relacionada). Se intubaron seis (6) sujetos (6 %) (según la base de datos de seguridad de acontecimientos informados, incluidos sujetos adicionales analizados después del punto de tiempo del análisis descrito en este ejemplo); n=94); 7 sujetos (7 %) recibieron vasopresores (según la base de datos de seguridad de acontecimientos informados, definido como la presentación de hipotensión en los primeros 28 días después de la administración de linfocitos T CAR$^+$, en la evaluación de AADT); y 2 sujetos (2 %) se sometieron a hemofiltración (según la base de datos de seguridad de acontecimientos informados). Los resultados mostraron que muy pocos pacientes requirieron atención a nivel de UCI y procedimientos asociados. Los resultados respaldaron la viabilidad de la administración ambulatoria, con un tratamiento seguro de la toxicidad en el entorno ambulatorio, educación adecuada y seguimiento ambulatorio.

La evaluación de la administración ambulatoria respaldó la viabilidad de una administración ambulatoria segura. El 30 % de los sujetos no fueron reingresados.

D. Evaluación farmacocinética

Número de linfocitos T CAR^+ en sangre periférica y médula ósea en puntos de tiempo previos a la administración (pretratamiento o quimioterapia previa a la reducción de linfocitos (LDC)) y en diversos puntos de tiempo posteriores al tratamiento (con el día de la administración como día 1) en 87 sujetos de la cohorte de LDLBG con PK evaluable, mediante citometría de flujo utilizando un anticuerpo específico para el receptor truncado utilizado como marcador sustituto, y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) utilizando cebadores específicos para un elemento regulador postranscripcional del virus de la hepatitis de la marmota (WPRE) presente en el vector que codifica el receptor de antígeno quimérico (CAR). El área bajo la curva que representa los números por microlitro para la población de células CAR^+ indicada entre los días 0 y 28 (ABC_{0-28}) y la concentración sanguínea máxima o pico de células CAR^+ ($C_{máx}$; células CAR^+/µl de sangre) fueron evaluadas. La aplasia de linfocitos B se evaluó en sangre periférica mediante citometría de flujo, mediante tinción con CD19. Las citocinas se midieron utilizando un ensayo de citocinas múltiple. Para análisis de seguridad, se agruparon los datos de todos los sujetos que recibieron diferentes niveles de dosis. Para el análisis de respuesta, los datos se estratificaron por nivel de dosis. El análisis estadístico fue bilateral sin ajuste de multiplicidad.

La **FIG. 9A** muestra números detectados de linfocitos T CAR por microlitro de sangre en diversos puntos de tiempo indicados, como se evalúa mediante qPCR o citometría de flujo. La **FIG. 9B** muestra células CAR^+ por microlitro de sangre versus microlitro de médula ósea el día 11 $\pm$ 3. Como se muestra en la **FIG. 9A,** los niveles de células que expresan CAR en muestras de sujetos se observaron mediante ensayos basados en citometría de flujo y ensayos basados en qPCR. Como se muestra en la **FIG. 9B,** todos los sujetos (n = 86 y 85 para citometría de flujo y qPCR, respectivamente, excluyendo a un paciente que no tenía resultados de citometría de flujo disponibles y 2 pacientes que no tenían resultados de qPCR disponibles) con resultados de PK evaluados, mostraron números detectables de células que expresan CAR en la sangre y la médula ósea. Los resultados fueron consistentes con una observación de que los linfocitos T CAR^+ habían circulado de manera similar a la médula ósea y la sangre.

Los niveles a lo largo del tiempo de células que expresan CAR $CD4^+$ y $CD8^+$ (según lo evaluado por ABC_{0-28} y $C_{máx}$) se compararon en diferentes subgrupos de pacientes que recibieron el nivel de dosis 1 (DL1): linfoma difuso de linfocitos B grandes de novo (LDLBG, NOS) o transformado a partir de linfoma folicular (LFt) (CENTRAL; N=32), LDLBG transformado de linfoma de zona marginal o leucemia linfocítica crónica (LZMt/LLCt; N=4) o linfoma de células del manto (LCM; N=5), que habían recibido linfocitos T que expresan CAR en DL1. Como se muestra en las **FIGS. 10A** y **10B,** ABC_{0-28} y $C_{máx}$, variaron entre sujetos en diferentes subgrupos de enfermedades, con expansión de células que expresan CAR $CD4^+$y $CD8^+$ que tienden a la baja en los subconjuntos distintos de CENTRAL. LLBMP (n = 2) y LF3B (n = 1) no se muestran debido al número limitado de pacientes. La expansión en los sujetos que recibieron DL2 fue similar a la de los sujetos que recibieron DL1.

E. Evaluación farmacocinética por nivel de dosis

También se compararon ABC_{0-28} y $C_{máx}$ para células que expresan CAR $CD3^+$, $CD4^+$ y $CD8^+$ en sujetos que habían recibido el nivel de dosis 1 (DL1; n=32) y aquellos que recibieron el nivel de dosis 2 (DL2; n=27), en la cohorte CENTRAL (sujetos con LDLBG, NOS o linfoma de linfocitos B de alto grado (doble/triple impacto); N=59). Como se muestra en las **FIGS. 11A** y **11B** y en la **Tabla E11**, una mediana de ABC_{0-28} más alta se observó para células que expresan CAR $CD3^+$, $CD4^+$ y $CD8^+$ en sujetos que recibieron DL2, en comparación con los sujetos que habían recibido DL1. De forma similar, se observó una tendencia de mayor expansión en los sujetos que habían recibido DL2 en la cohorte completa de LDLBG. También se observó una mayor durabilidad de la respuesta (DR) a los 3 meses entre los sujetos que habían recibido DL2 en comparación con los que habían recibido DL1, sin un aumento de la toxicidad. La mediana de tiempo hasta $C_{máx}$ ($T_{máx}$) para células CAR^+ $CD4^+$ y $CD8^+$ fue similar entre los sujetos que recibieron DL1 y DL2.

Se observó un aumento de exposición de linfocitos T CAR^+ en DL2 frente a DL1, correspondiente a una mayor durabilidad de la respuesta sin aumento de la toxicidad en sujetos con DL2.

Tabla E11. Farmacocinética en sujetos agrupados por niveles de dosis en la cohorte central

	DL1S (n = 32)	**DL2S (n = 27)**	**Total, DL1S y DL2S (n = 59)**
$CD3^+$			
$C_{máx}$, mediana (células/µl)	48,2	96,2	65,8
Q1, Q3	15,6, 151,3	302, 219,5	19,0, 204,2
Mín, máx	0,1,7726,3	1,1, 1280,9	0,1,7726,3
$T_{máx}$, mediana (días)	14,5	15,0	15,0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Mín, máx	9, 24	8, 31	8, 31
AUC_{0-28}, mediana (células*día/µl)	477,7	823,1	542,4
Q1, Q3	165,9, 999,3	155,8, 3628,3	155,8, 3381,9

(continuación)

Tabla E11. Farmacocinética en sujetos agrupados por niveles de dosis en la cohorte central			
	DL1S (n = 32)	**DL2S (n = 27)**	**Total, DL1S y DL2S (n = 59)**
Mín, máx	1,8, 142816,7	16,5, 16087,8	1,8, 142816,7
$CD4^+$			
$C_{máx}$, mediana (células/µl)	7,0	14,9	7,7
Q1, Q3	2,6, 46,0	2,0,46,8	2,5, 46,8
Mín, máx	0,1, 3039,9	0,2, 169,4	0,1, 3039,9
$T_{máx}$, mediana (días)	14,0	15,0	15,0
Q1, Q3	11, 15	11, 15	11, 15
Mín, máx	8, 24	8, 31	8, 31
AUC_{0-28}, mediana (células*día/µl)	71,1	166,1	91,5
Q1, Q3	26,4, 274,7	18,1,679,0	23,9,368,8
Mín, máx	1,2, 68990,3	2,9, 4266,8	1,2, 68990,3
$CD8^+$			
$C_{máx}$, mediana (células/µl)	26,1	62,8	43,6
Q1, Q3	3,7, 111,2	26,2,171,7	9,1,151,6
Mín, máx	0,0, 5237,6	0,7,1261,8	0,0, 5237,6
$T_{máx}$, mediana (días)	15,0	15,0	15,0
Q1, Q3	11, 16	11, 17	11, 16
Mín, máx	4, 28	8, 31	4, 31
AUC_{0-28}, mediana (células*día/µl)	347,2	606,6	412,2
Q1, Q3	52,1,871,4	155,7,2463,4	72,1,1852,5
Mín, máx	0,3, 81865,9	4,7, 15570,0	0,3, 81865,9

F. Persistencia

Se evaluó la persistencia de células que expresan CAR y aplasia de linfocitos B $CD19^+$ (números bajos o ausencia de linfocitos B $CD19^+$) en diversos puntos de tiempo en sujetos evaluables con LDLBG a los que se les había administrado linfocitos T CAR^+, basándose en niveles de células que expresan CAR $CD3^+$, $CD4^+$ o $CD8^+$ y niveles de linfocitos B $CD19^+$ detectables en la sangre, respectivamente. Los resultados se exponen en la **Tabla E12.** Entre los sujetos evaluados en el momento de la progresión (tiempo de progresión independientemente del MRG; n=37), una mediana de 0,17 células $CD4^+$ CAR^+/µl (intervalo, 0-65,5 células/µl) y una mediana de 0,15 células $CD8^+$ CAR^+ células/µl (rango, 0-131,8 células/µl) se observaron durante la progresión. Entre los sujetos evaluados en el momento de la recaída (en el momento de la progresión después de lograr la RC) (n=12), una mediana de 0,17/pL (intervalo, 0-35,1 células/µl) de células que expresan CAR $CD4^+$ y una mediana de 0,20 células/µl (intervalo, 0-131,8 células/µl) de células que expresan CAR $CD8^+$ se observaron en el momento de la recaída una persistencia a largo plazo de células que expresan CAR en el 75 % de los sujetos evaluables con LDLBG a los 12 meses. También se observó persistencia a largo plazo de la aplasia de linfocitos B en el 75 % de los sujetos a los 12 meses, y en los sujetos independientemente del estado de recaída. Los resultados son consistentes con la conclusión de que las células que expresan CAR anti-CD 19 exhibieron persistencia a largo plazo en la mayoría de los sujetos, y sugieren el potencial de control de la enfermedad de bajo nivel en curso incluso en pacientes con recaída.

De los sujetos que recayeron, el 91,7 % (11/12) tenía células que expresaban CAR detectables en la sangre en el momento de la recaída. Este resultado es consistente con la conclusión de que se puede usar una terapia combinada u otra intervención en algunas realizaciones para aumentar y/o estimular las células que expresan CAR, como aquellas que pueden estar agotadas.

Tabla E12. Persistencia a largo plazo de células CAR^+ y aplasia de CD19						
	Mes 3	**Mes 6**	**Mes 9**	**Mes 12**	**En progresión**	**En recaída**
Persistencia de T CAR en pacientes evaluables, n	50	30	18	12	37	12
$CD3^+$, %	100	80,0	77,8	75,0	91,9	91,7
$CD4^+$, %	88,0	63,3	50,0	41,7	83,8	83,3
$CD8^+$, %	90,0	70,0	55,6	50,0	83,8	75,0
Aplasia de linfocitos B $CD19^+$ (< 1 célula/µl), %	96,0	93,3	77,8	75,0	97,3	100

G Evaluación farmacocinética y toxicidad

También se compararon ABC_{0-28} y $C_{máx}$ de células que expresan CAR $CD4^+$ y $CD8^+$ en sujetos de la cohorte central de cualquier grado (en esta evaluación, cualquiera de los grados 1-4; no se observó SLC o NT de grado 5),

síndrome de liberación de citocinas (SLC) o neurotoxicidad (NT) con respecto a sujetos que no fueron evaluados como que muestran cualquier grado de SLC o NT. La mediana de AUC_{0-28} de $CD4^+$ CAR^+ (Q1, Q3) fue 59 (18, 210) para ningún SLC (grado 0; n=43), y 267 (91, 1510) para cualquier SLC (grados 1-4; n=20) (p = 0,001); la mediana de AUC_{0-28} de $CD8^+$ CAR^+ (Q1, Q3) fue 310 (36, 900) para ningún SLC (grado 0; n=43), y 605 (174, 5619) para cualquier SLC (grados 1-4; n=20) (p = 0,021); la mediana de AUC_{0-28} de $CD4^+$ CAR^+ (Q1, Q3) fue 71 (23, 244) para ningún NT (grado 0; n=50), y 1269 (184, 3057) para cualquier NT (grados 1-4; n=13) (p = 0,003); la mediana de AUC_{0-28} de $CD8^+$ CAR^+ (Q1, Q3) fue 304 (43, 799) para ningún NT (grado 0; n=50), y 2463 (607, 7691) para cualquier NT (grados 1-4; n=13) (p = 0,004). Como se describió anteriormente y se muestra en las **FIGS. 12A-12D**, los niveles más altos de células que expresan CAR $CD4^+$ y $CD8^+$ a lo largo del tiempo se asociaron con SLC y NT.

H. Evaluación y respuesta farmacocinética

El número de células CAR^+ $CD3^+$ máximo/µl ($C_{máx}$ de $CD3^+$) se evaluó con respecto al tiempo en sujetos que tuvieron la mejor respuesta global (MRG) de RC, RP o PE. Como se muestra en las **FIGS. 13A** y **13B,** se observó una tendencia hacia una mejor MRG en los sujetos con mayor expansión, con variabilidad entre sujetos.

I. Evaluación farmacocinética mediante analitos sanguíneos y parámetros del paciente

Los niveles de citocinas en plasma previos al tratamiento de linfocitos T CAR^+ (previos a quimioterapia de reducción de linfocitos), incluyendo interleucina -7 (IL-7), IL-15, proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1α), se evaluaron en sujetos que exhibieron una $C_{máx}$ en sangre de CAR^+CD3^+ > 500 linfocitos T CAR^+/µl (N=55) en comparación con sujetos que exhibieron $C_{máx}$ en sangre de CAR^+CD3^+ < 500 linfocitos T CAR^+/µl (N=7). Como se muestra en la **FIG. 14A,** los niveles de citocinas en plasma elevados previos al tratamiento de linfocitos T CAR^+ se observaron que estaban asociados a $C_{máx}$ de CAR^+CD3^+ > 500 linfocitos T CAR^+/µl (valores P de Wilcoxon < 0,05 (sin multiplicidad de ajuste); excepto IL-7 p = 0,07).

Los niveles máximos de diversas citocinas plasmáticas (IL-6, IL-10, IL-16, interferón gamma (IFN-γ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), MIP-1α, MIP-1β, proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1) y la quimiocina 10 con motivo CXC (CXCL10) también se evaluaron en sujetos que presentaban $C_{máx}$ en sangre de CAR^+CD3^+ > 500 linfocitos T CAR^+/µl (N=68) en comparación con sujetos que exhibieron $C_{máx}$ en sangre de CAR^+CD3^+ < 500 linfocitos T CAR^+/µl; N=9). Como se muestra en la **FIG. 14B,** se observó que los niveles de citocinas máximos más altos estaban asociados a $C_{máx}$ de CAR^+CD3^+ > 500 linfocitos T CAR^+/µl (valores P de Wilcoxon < 0,05; sin multiplicidad de ajustes).

Se evaluó la relación entre la medición de tumor volumétrica previa al tratamiento de linfocitos T CAR^+ (previa a quimioterapia de reducción de linfocitos (LDC)), suma de las dimensiones del producto (SPD), como indicador de la carga tumoral y el ABC_{0-28} de linfocitos T $CD3^+$ CAR^+, representando la exposición de T CAR^+ a lo largo del tiempo. Como se muestra en la **FIG. 15**, se observó una correlación positiva entre la SPD inicial y el AUC_{0-28} de $CD3^+$, con una correlación de Spearman de 0,32 y p = 0,019.

J. Parámetros del paciente previos al tratamiento y resultados de respuesta y toxicidad

Los niveles de analito previos al tratamiento de linfocitos T CAR^+ (previos a LDC), incluyendo citocinas y marcadores inflamatorios como ferritina, proteína C reactiva (PCR), dímero D (producto de degradación de la fibrina), IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, MIP-1α y MIP-1β, se compararon para sujetos con cualquier grado (en este caso, grados 1-4) de síndrome de liberación de citocinas (SLC) o neurotoxicidad (NT) con sujetos que no tenían ningún SLC o NT (grado 0). En esta cohorte, entre sujetos con SLC grado 1-4, se determinó que todos los acontecimientos de SLC menos uno eran de grado 1 o 2. Como se muestra en la **FIG. 16A** (SLC) y la **FIG. 16B** (NT), se observó que los niveles máximos de citocinas en plasma y los niveles de marcadores inflamatorios estaban asociados a SLC y NT, basándose en análisis univariado (valores P de Wilcoxon < 0,05 para todos los analitos excepto ferritina para SLC (p = 0,14) y PCR para SLC (p = 0,09)). Para SLC, después de ajustar la carga tumoral en un análisis multivariable, MIP-1β, IL-10 y TNF tuvieron p < 0,05; para NT, IL-15, IL-6, MIP-1α y TNF tuvieron p < 0,05.

Los parámetros del paciente previos al tratamiento (previos a LDC), como los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) y una medición del tumor volumétrica como la suma de las dimensiones del producto (SPD), como indicador de la carga tumoral, se compararon entre sujetos en los que no se observó que habían desarrollado SLC o neurotoxicidad versus sujetos en los que se observó que habían desarrollado SLC o NT. Como se muestra en la **FIG. 17**, los sujetos con SLC o NT mostraron niveles más altos de parámetros de pacientes previos al tratamiento, como SPD (cm^2) y niveles de LDH (U/l); se observó que dichos niveles estaban correlacionados con SLC o NT, con análisis estadístico univariado. Otros parámetros de pacientes que se observó que estaban asociados a SLC y NT incluyen un tiempo más corto desde el diagnóstico (p = 0,05 y p = 0,09, para SLC y NT, respectivamente). Los parámetros de pacientes que se observó que no estaban asociados a SLC o NT incluyeron la edad (p = 0,19 y p = 0,54, respectivamente) y el número de terapias anteriores (p = 0,67 y p = 0,59, respectivamente), estadio de la enfermedad 0-2 frente a 3-4 (p=0,79, p=0,51) y peso del paciente (p=0,35 y p=0,44, respectivamente).

La **FIG. 18A** muestra los niveles de SPD y LDH previos al tratamiento entre pacientes individuales (puntos; con el

sombreado de puntos individuales que indican si los pacientes individuales presentaron o presentaron y no presentaron ningún grado de neurotoxicidad (panel de la izquierda) o presentaron y no presentaron cualquier grado de SLC (panel de la derecha). En la **FIG. 18A**, las líneas de puntos en los ejes y y x delinean SPD ≥50 cm^2 y LDH ≥500 U/l, respectivamente. Como se muestra en la **FIG. 18A,** una SPD de aproximadamente 50 cm^2 o superior, y/o una LDH de aproximadamente 500 U/l o superior, se observó que estaban asociadas al riesgo de NT y SLC. Las estimaciones de relación de posibilidades calculadas para desarrollar SLC o NT en sujetos por encima o por debajo de los niveles de SPD y LDH indicados por líneas de puntos en la **FIG. 18A**, con intervalos de confianza (IC) al 95 %, están representadas en las **FIGS. 18B** y **18C.** Una relación de probabilidades superior a 1 indicó una mayor probabilidad de desarrollar SLC o NT. Como se muestra, SPD de 50 cm^2 o superior, y LDH de 500 U/l o superior, se observó que estaban asociadas a un mayor riesgo de desarrollar SLC o NT. Se observó que SPD de 50 cm^2 o superior y LDH de 500 U/l o superior estaban asociadas a un riesgo aproximadamente 8 veces mayor de desarrollar cualquier grado de SLC y NT, y SPD inferior a 50 cm^2 y LDH inferior a 500 U/l mostró un riesgo reducido de cualquier grado de SLC y NT. Los resultados fueron consistentes con una asociación de parámetros iniciales del paciente, incluyendo una alta carga tumoral y biomarcadores inflamatorios, con expansión de linfocitos T CAR^+ y aumento de las tasas de SLC y neurotoxicidad.

Diversos parámetros del paciente previos al tratamiento (previos a LDC), incluyendo marcadores asociados con la carga tumoral (SPD), citocinas inflamatorias y otros analitos sanguíneos, incluyendo LDH, ferritina, PCR, dímero D, SAA-1, IL-6, IL-10, IL-15, IL-16, TNF-α, IFN-γ, MIP-1α and CXCL10, se compararon para sujetos con y sin una respuesta duradera a los 3 meses, con análisis estadístico univariado. Como se muestra en la **FIG. 19,** se observó que determinados marcadores de carga tumoral, marcadores de inflamación o citocinas inflamatorias eran más bajos en los sujetos que exhibieron una respuesta duradera (valor de p <0,05 para todos los parámetros excepto SPD (p = 0,1274)). Se observaron resultados similares en sujetos que recibieron DL2, cuando se analizó solo. Una asociación inversa de los parámetros iniciales del paciente, incluyendo una alta carga tumoral y biomarcadores inflamatorios, se observó con respuesta duradera. En algunos aspectos, dicha asociación inversa puede deberse a una mayor expansión y agotamiento de linfocitos T CAR^+.

Las relaciones entre los factores del paciente, los correlatos clínicos y los analitos sanguíneos con el desarrollo de grados de SLC y NT se evaluaron mediante análisis estadístico basado en pruebas no paramétricas univariadas. La **Tabla E13** enumera los resultados del análisis univariado. En esta evaluación, edad <40 años y ningún TCMH previo se correlacionaba con la incidencia de SLC o NT. No se observó que los sujetos con edad < 40 años tuvieran tasas estadísticamente diferentes de mayor carga tumoral que los pacientes de mayor edad. Los sujetos con una puntuación ECOG de 2 no tuvieron tasas estadísticamente diferentes de mayor carga tumoral en comparación con los sujetos con una puntuación ECOG de 0-1. Aquellos sin TCMH previo o doble/triple impacto o doble expresor no se asociaron con SLC o NT.

Tabla E13. Análisis univariado de subgrupos clave

	SLC			NT		
Variable, n (%)	**Cualquier grado**	**Grado 1/2**	**Grado 3/4**	**Cualquier grado**	**Grado 1/2**	**Grado 3/4**
Población COMPLETA (N = 91)						
Edad						
< 40 años (n = 8)	5 (63)	4 (50)	1 (13)	3 (38)	0	3 (38)
40-64 años (n = 49)	19 (39)	19 (39)	0	9 (18)	5 (10)	4 (8)
≥ 65 años (n = 34)	8 (24)	8 (24)	0	5 (15)	1 (3)	4 (12)
ECOG PS previo a LD						
0-1 (n = 81)	28 (35)	27 (33)	1(1)	15 (19)	4 (5)	11 (14)
2 (n = 10)	4 (40)	4 (40)	0	2 (20)	2 (20)	0
Doble/triple impacto o doble expresor						
Sí (n = 30)	12 (40)	12 (40)	0	6 (20)	3 (10)	3 (10)
No (n = 22)	6 (27)	6 (27)	0	4 (18)	2 (9)	2 (9)
TCMH previo						
Sí (n = 39)	10 (26)	10 (26)	0	5 (13)	4 (10)	1 (3)
No (n = 52)	22 (42)	21 (40)	1 (2)	12 (23)	2 (4)	10 (19)

K. Analitos sanguíneos máximos, respuesta y toxicidad

Los niveles plasmáticos máximos de analitos sanguíneos después del tratamiento, incluyendo citocinas y marcadores inflamatorios como PCR, amiloide A1 sérico (SAA-1), IL-2, IL-6, IL-10, IL-15, TNF-α, MIP-1α, MIP-1J3, MCP-1, CXCL10 y ligando 13 de quimiocina con motivo C-C (CCL13) se compararon para sujetos con síndrome de liberación de citocinas (SLC) o neurotoxicidad (NT) de grado 1-4 con sujetos en los que no se observó que tuvieran SLC o NT. Como se muestra en la **FIG. 20A** (SLC; SLC de grado 0, n=51; SLC grados 1-4, n=28) y **FIG. 20B** (NT; NT de grado 0, n=63; NT grados 1-4, n = 16), se observó que los niveles de citocinas plasmáticas y los niveles de marcadores inflamatorios máximos más altos estaban asociados a SLC y NT (valores P de Wilcoxon < 0,001 para ningún SLC versus cualquier SLC y para ninguna NT versus cualquier NT, excepto IL-15 (P= 0,05 y 0,006,

respectivamente)).

Los niveles plasmáticos máximos de analitos sanguíneos, incluyendo citocinas y marcadores inflamatorios como PCR, SAA-1, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, linfotoxina-alfa (LT-α), TNF-α, IFN-γ, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, CXCL10 y factor de crecimiento transformante beta (TGF-β), se evaluaron para sujetos con una mejor respuesta global (MRG) de respuesta completa (RC) o respuesta parcial (RP) (N = 57) en comparación con los niveles en sujetos con cáncer estable (CE) o progresión de la enfermedad (PE) (N = 17); o para sujetos con CE o PE a los 3 meses (SD/PD) (N=31), en comparación con sujetos que exhibieron RC/RP a los 3 meses (N=35). Como se muestra en **FIG. 21A** (mejor respuesta global (MRG)) y la **FIG. 21B** (respuesta al mes 3), se observó que los niveles de citocinas plasmáticas y los niveles de marcadores inflamatorios máximos más bajos estaban asociados a una mejor MRG y respuesta en el mes 3 (valores P de Wilcoxon <0,05 sin multiplicidad de ajuste).

En este estudio, la administración de composiciones de células CAR$^+$ anti-CD 19 se administró a sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) agresivo recurrente/resistente a tratamiento que tenían características de enfermedad de bajo riesgo. Se observaron respuestas, incluyendo respuestas duraderas, incluyendo el 81 % de TRO, el 63 % de RC en DL2, con el 80 % de los pacientes en RC a los 3 meses permaneciendo en RC a los 6 meses en todos los niveles de dosis, mediana de DR de sujetos tratados con todos los niveles de dosis de 9,2 meses, sin haberse alcanzado una duración media de RC en el punto de tiempo del análisis en este ejemplo. Los resultados también fueron consistentes con niveles de toxicidad gestionables y un perfil de seguridad favorable que en algunas realizaciones puede ser consistente con la administración ambulatoria. Se observaron tasas bajas de SLC grave (1 %) y neurotoxicidad grave (12 %), con pocos acontecimientos en las primeras 72 horas. Los resultados fueron consistentes con la viabilidad de la administración ambulatoria.

Las evaluaciones farmacocinéticas mostraron que una mayor expansión de linfocitos T CAR$^+$ generalmente estaba asociada a mayores tasas de SLC y NT. Los sujetos que recibieron DL2 mostraron una mayor exposición a T CAR en comparación con los sujetos que recibieron DL1, que generalmente correspondió a una mayor durabilidad de la respuesta sin una mayor incidencia de toxicidad. En algunos aspectos, los factores del paciente previos al tratamiento, tal como previos a LDC, incluyendo citocinas homeostáticas e inflamatorias y carga tumoral, se observaron que estaban asociados a y/o accionaban una expansión y toxicidad muy altas. Se demostró que los linfocitos T CAR$^+$ administrados se expanden en la sangre y la médula ósea de todos los pacientes, con variabilidad entre sujetos y entre tipos de enfermedades. Los linfocitos T CAR$^+$ administrados también mostraron persistencia a largo plazo, teniendo el 75 % (9/12) de los pacientes evaluables linfocitos T CAR detectables a los 12 meses. Se observó que los linfocitos T CAR y la aplasia de linfocitos B todavía estaban presentes en el momento de la recaída (11/12 y 12/12 pacientes, respectivamente), apoyando que los tumores pueden evadir la acción de los linfocitos T CAR y que las estrategias combinadas pueden ser efectivas para prevenir la recaída o el aumento, reforzar o mejorar los linfocitos T CAR agotados. En general, se observó una tendencia de mayor respuesta con mayor expansión, con variabilidad entre sujetos, apoyando que otros factores del paciente y/o características de la enfermedad, por ejemplo, carga tumoral, Pueden contribuir a determinar la respuesta.

Ejemplo 4 Atributos de la composición terapéutica de linfocitos T para la administración y proceso para la generación de la composición

Las composiciones de linfocitos T terapéuticas que contienen linfocitos T autólogos que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19, utilizados para la administración en los Ejemplos 1 y 2 anteriores se evaluaron para más de cien atributos fenotípicos, funcionales y relacionados con la salud celular, mediante citometría de flujo y ensayos in vitro. Se examinaron composiciones de células terapéuticas generadas para sujetos inscritos en un estudio clínico que evalúa la terapia de linfocitos T-CAR anti-CD 19 para el tratamiento del linfoma no Hodgkin de linfocitos B en recaída/refractario (N = 63; cohorte central). Las células se evaluaron antes y después de la modificación por ingeniería genética, para determinar diversos atributos. Los atributos a modo de ejemplo que fueron evaluados se exponen en la **Tabla E14.** Se examinaron los fenotipos de memoria y salud celular de los linfocitos T CAR mediante citometría de flujo. La funcionalidad de lo linfocitos T se evaluó usando bioensayos específicos de antígeno *in vitro*. Se realizaron pruebas de caracterización y liberación en composiciones terapéuticas de linfocitos T que se habían sometido a un número representativo de ciclos de congelación y descongelación.

Tabla E14: Atributos de caracterización representativos medidos en composiciones de células terapéuticas que contienen linfocitos T CAR anti-CD19

Clase de caracterización de composición de células	**Atributo representativo**
Salud celular	Viabilidad
	Caspasa-3 intracelular activa
	Anexina V
Fenotipo de memoria	CCR7 (receptor de quimiocina C-C tipo 7)
Función celular	Citocinas inflamatorias como el TNF-α (factor de necrosis tumoral α)

Para la generación de composiciones de células para administración, se aislaron células autólogas de los sujetos mediante leucocitaféresis. Las muestras de leucocitaféresis se sometieron a un proceso de generación de células que expresan CAR. El proceso implicó el lavado de células usando un lavado automatizado y una selección basada en inmunoafinidad para la purificación de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$, dando como resultado dos composiciones, enriquecidas para células $CD8^+$ (en la que una mediana del 99 %, intervalo intercuartil (IQR) 98-100 %, de las células eran $CD8^+$) y $CD4^+$ (en la que una mediana del 99 %, IQR 99-100 %, de las células eran $CD4^+$), respectivamente.

Las células de las composiciones enriquecidas con $CD4^+$ y $CD8^+$ se sometieron por separado a transducción lentiviral con un vector que codifica un CAR anti-CD19 con un dominio coestimulador 41BB. Luego, las poblaciones transducidas se incubaron por separado en presencia de reactivos estimulantes para la expansión celular. Las células $CD8^+$ y $CD4^+$ expandidas se formularon y crioconservaron por separado y se almacenaron antes de la administración. Para minimizar variaciones, entre lotes y/o composiciones de células derivadas de diferentes pacientes, como aquellos que tienen diferentes atributos de paciente, en parámetros indicativos de la salud celular, las células se mantuvieron en volúmenes constantes en todos los lotes. Los productos celulares exhibieron un intervalo estrecho de concentraciones de células viables (basándose en una evaluación de las composiciones de células para un grupo de sujetos, $CD8^+$: mediana 31 × 10^6 células/ml, IQR 28-40 × 10^6 células/ml, N=38; $CD4^+$: mediana 35 × 10^6 células/ml, IQR 31-40 × 10^6, N=36).

Como se muestra en las **FIG. 26** y en la **Tabla E15**, la purificación automatizada de linfocitos T dio como resultado poblaciones de linfocitos T $CD8^+$ y $CD4^+$ puras. Esta estrategia redujo la probabilidad de transducir células distintas a linfocitos T y dio como resultado altas purezas de linfocitos T en la composición de células terapéutica independientemente de la duración de la expansión.

Tabla E15: Pureza de linfocitos T (% de leucocitos totales) por etapa de proceso

		Leucocitaféresis	Posterior a purificación	Proceso medio	Composición farmacológica
Frecuencia de linfocitos T $CD4^+$	**Mediana**	17,6	95,3	98,9	99,2
	IQR	11,7-24,7	92,1-98,5	98,1-99,2	98,7-99,6
Frecuencia de linfocitos T $CD8^+$	**Mediana**	19,2	96,0	98,9	99,3
	IQR	13,2-30,9	93,4-98,6	98,0-99,2	98,4-99,7

En el sitio de administración, las composiciones de células se descongelaron y administraron por separado, según un volumen objetivo de cada composición correspondiente al número de células $CD8^+CAR^+$ y $CD4^+CAR^+$ en la dosis adecuada (como para DL1, que contiene 5 × 10^7 linfocitos T que expresan CAR totales (2,5 × 10^7 cada una de las células que expresan CAR $CD4^+$ y que expresan CAR $CD8^+$), o DL2, que contiene 1 × 10^8 linfocitos T que expresan CAR totales (5 × 10^7 cada una de las células que expresan CAR $CD4^+$ y que expresan CAR $CD8^+$)).

Durante el ensayo clínico hubo un cambio de proceso de una formulación de alto volumen a una formulación de bajo volumen. La composición de células terapéutica posterior al cambio se formuló a un volumen bajo constante, con un intervalo estrictamente controlado de concentraciones de células viables. En algunos casos, se utilizó una formulación de bajo volumen en lugar de una formulación de alto volumen. Se evaluaron los parámetros indicativos de la salud de los linfocitos T que expresan CAR en las composiciones para administración, tal como mediante medición, descongelación posterior, viabilidad, expresión de anexina V en la superficie celular y niveles de caspasa 3 intracelular activa, en composiciones de células que se formularon con alto volumen y bajo volumen.

El cambio de proceso de la formulación de alto volumen a la formulación de bajo volumen dio como resultado una mayor solidez del proceso y una menor variabilidad de los atributos de salud celular. Los valores de concentración, porcentaje de células viables y porcentaje de células negativas para caspasa-3 activa entre los linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ de composiciones de células individuales se muestran en las **FIGS. 27A-27C** y se resumen en la **Tabla E16.** La mediana de porcentaje de células que expresan anexina V fue del 11 % (IQR 9-18 %; N=33) de linfocitos T $CD8^+CAR^+$ y del 10 % (IQR 8-17 %; N=31) de linfocitos T $CD4^+CAR^+$. Se observó que la expresión de caspasa 3 era similar a la expresión de anexina V. El cambio a una formulación de bajo volumen dio como resultado una mayor solidez del proceso y redujo la variación de los atributos de salud celular.

Tabla E16: Atributos de salud celular

		$CD4^+$		$CD8^+$	
		Volumen de formulación alto	**Volumen de formulación bajo**	**Volumen de formulación alto**	**Volumen de formulación bajo**
Concentración de células ×10^6 células/ml	**Mediana**	17,1	37,2	12,1	30,8
	IQR	15,9-19,3	31,7-40,4	10,9-15,3	28,5-38,0

(continuación)

Tabla E16: Atributos de salud celular					
		CD4+		CD8+	
		Volumen de formulación alto	Volumen de formulación bajo	Volumen de formulación alto	Volumen de formulación bajo
% de viabilidad celular	Mediana	82,8	82,5	72,0	80,3
	IQR	79,5-84,7	80,4-84,3	69,3-76,6	76,4-83,3
% de células negativas para caspasa-3	Mediana		82,8		82,5
	IQR		79,5-84,7		80,4-84,3

Las cantidades de linfocitos T CAR^+CD4^+ y CAR^+CD8^+ en la composición para la administración se controlaron con precisión. Se observó que el número de células realmente administradas a un conjunto a modo de ejemplo de sujetos estaba dentro del 8 % o menos del número de células objetivo para una dosis determinada:

- $2{,}4\text{-}2{,}7 \times 10^7$ (objetivo ±8 %) linfocitos T $CD4^+CAR^+$ y $2{,}4\text{-}2{,}7 \times 10^7$ (objetivo ±8 %) linfocitos T $CD8^+CAR^+$ para sujetos a los que se les administraron células en DL1 (n=48)
- $4{,}6\text{-}5{,}1 \times 10^7$ (objetivo ±8 %) linfocitos T $CD4^+CAR^+$ o $4{,}6\text{-}5{,}1 \times 10^7$ (objetivo ±8 %) linfocitos T $CD8^+CAR^+$ para sujetos a los que se les administraron células en DL2 (n=20).

Se encontró que el intervalo de dosis administrada tenía una baja variabilidad en un conjunto a modo de ejemplo diferente de sujetos:

- $48\text{-}52 \times 10^6$ linfocitos T $CD3^+CAR^+$ en DL1 (n =34)
- $96\text{-}101 \times 10^6$ linfocitos T $CD3^+CAR^+$ en DL2 (n = 29)
- $24\text{-}27 \times 10^6$ linfocitos T $CD4^+CAR^+$ o linfocitos T $CD8^+CAR^+$ en DL1 (n = 34)
- $46\text{-}51 \times 10^6$ linfocitos T $CD4^+CAR^+$ o linfocitos T $CD8^+CAR^+$ en DL2 (n = 29).

Como se muestra en la **FIG. 28A,** se observó que las composiciones de linfocitos T que expresan CAR administradas a sujetos exhiben una alta pureza de linfocitos T y una baja variación entre lotes. En vista, por ejemplo, de controles de procesos y productos, se observó que las composiciones de células terapéuticas que contienen linfocitos T CAR tenían una baja variabilidad entre lotes en la función de los linfocitos T específica de cada célula.

La acumulación de citocinas específicas de antígeno *in vitro* y la tinción de citocinas intracelulares (ICS) mostraron una variación baja similar entre lotes para la producción de citocinas para múltiples citocinas (IL-2, TNF-α and IFN-y). En un experimento de ICS a modo de ejemplo, las células de las composiciones se estimularon con CD 19, se tiñeron para citocinas, incluyendo TNF-α, y proteínas de superficie, incluyendo el receptor de quimiocina C-C tipo 7 (CCR7) como marcador de fenotipo de memoria, y se analizaron mediante citometría de flujo. Se determinó el número de células en la composición para administración que fueron positivas para las citocinas o proteínas de superficie. La **FIG. 28B** muestra el número de células $CD4^+CAR^+$ y $CD8^+CAR^+$, células $CD4^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ y $CD8^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$, $CD4^+CAR^+CCR7^+$ y $CD8^+CAR^+CCR7^+$ y presente en composiciones de linfocitos T CAR para administración en DL1 y DL2. Estos resultados se resumen en la **Tabla E17.** Los resultados muestran una baja variabilidad en el número de células $CD4^+CAR^+$ y $CD8^+CAR^+$, células $CD4^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$ y $CD8^+CAR^+TNF\text{-}\alpha^+$, células $CD4^+CAR^+CCR7^+$ y $CD8^+CAR^+CCR7^+$. Por ejemplo, se observó un intervalo estrecho para el número de células positivas para la producción de TNF-α (n = 61).

Tabla E17: Dosis controlada, fenotipos de linfocitos T y función específica de la célula (x 10^6 células)

	$CD4^+CAR^+$		$CD8^+CAR^+$		$CD4^+CAR^+$ $TNF\text{-}\alpha^+$		$CD8^+CAR^+$ $TNF\text{-}\alpha^+$		$CD4^+CAR^+$ $CCR7^+$		$CD8^+CAR^+$ $CCR7^+$	
	DL1	DL2	DL1	DL2	DL1	DL2	DL1	DL2	DL1	DL2	DL1	DL2
Mediana	25,1	50,1	25,0	50,0	23,0	47,4	19,9	41,7	11,1	15,8	8,9	15,0
IQR	24,7-25,3	49,6-50,0	24,8-25,2	49,6-50,4	21,3-23,5	46,6-48,5	18,3-21,8	39,9-46,0	6,5-14,1	11,0-26,0	3,0-14,8	8,6-25,3

Un parámetro indicativo de la producción por células CAR^+ del factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) después de la estimulación con CD 19 mostró un intervalo estrecho entre diferentes lotes, con desviación estándar relativa (RSD) del 37 % para linfocitos T $CD4^+CAR^+$ (N=59) y del 51 % para linfocitos T $CD8^+CAR^+$ (N=61).

Los resultados fueron consistentes con una observación de que una composición que contiene una dosis precisa y consistente de linfocitos T CAR $CD4^+$ y $CD8^+$, control y optimización de condiciones de cultivo de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$, baja variabilidad de la producción de citocinas y/o formulación y volumen constantes de la composición para administración pueden conducir a una salud celular constante en la composición. En realizaciones proporcionadas, aspectos de dicho proceso de fabricación y control contribuyen a la baja variabilidad en los atributos de dichas composiciones de células modificadas por ingeniería genética utilizando células de, y generadas para la administración a, un número de diferentes sujetos. Dichos aspectos en algunos aspectos incluyen el uso de una dosis precisa, fija constante de células $CD4^+$ y $CD8^+$ administradas entre sujetos; control y optimización de condiciones de cultivo de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ como aquellas que dan como resultado una baja variabilidad de fenotipos entre lotes de productos (p. ej., CCR7) y función *in vitro* (p. ej., producción de IL-2, TNF-α e IFN-γ después de la estimulación antigénica) tal como entre diferentes sujetos; y el uso de una formulación y un volumen constantes de producto farmacéutico que pueden dar como resultado o contribuir a la coherencia entre las composiciones de células terapéuticas generadas por el método en atributos indicativos de la salud celular.

Ejemplo 5 Evaluación de biomarcadores en biopsias tumorales previas y posteriores a la administración de sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento para la administración de células que expresan CAR anti-CD19

Se evaluó la expresión de varios biomarcadores en biopsias de tumores recogidas de sujetos antes y/o después de la administración de células que expresan CAR.

A. Muestras de biopsia de tumores

Se recogieron biopsias de tumores de sujetos seleccionados con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) o linfoma de células del manto (LCM) recurrente o resistente a tratamiento (R/R) que recibieron tratamiento con composiciones de linfocitos T CAR^+ terapéuticas que contienen linfocitos T autólogos que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19, descritas anteriormente en los Ejemplos 1 y 2 anteriormente, basándose en el punto de tiempo de la evaluación en el Ejemplo 1.A.2. Las biopsias del tumor se obtuvieron antes de la administración de los linfocitos T CAR^+ (pretratamiento) y de 7 a 20 días después de la administración (postratamiento). Los resultados se describen en este ejemplo para su evaluación durante el punto de tiempo en el Ejemplo 1.A.2, en un estudio en curso. Se examinaron los resultados de 43 biopsias (26 pretratamiento; 17 postratamiento y 15 pares emparejados) de 28 sujetos en total (25 LDLBG y 3 LCM).

B. Evaluación de biomarcadores, resultados de respuesta y seguridad

La infiltracción de linfocitos T CAR^+ en la biopsia del tumor se cuantificó utilizando sondas de hibridación in situ (ISH) específicas para el ARNm que codifica el CAR anti-CD 19. Se enumeraron los linfocitos T CAR^+, los linfocitos T distintos de CAR y los linfocitos B mediante ensayos de inmunofluorescencia (IF) múltiplex que detectan un marcador sustituto de la superficie celular para las células que expresan CAR, CD4, CD8, CD19, CD20, CD73, FOXP3, CD163, IDO y PD-L1. Las secciones de biopsia del tumor se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E) y se evaluaron para determinar la calidad del tejido y la identificación del tumor. Las imágenes de inmunofluorescencia se analizaron utilizando un software de análisis de imágenes. Las posibles correlaciones con los resultados de respuesta se evaluaron mediante análisis estadístico basado en pruebas de t univariadas, y los valores de p fueron bilaterales sin ajuste de multiplicidad.

Los sujetos fueron evaluados para determinar los resultados de respuesta y seguridad, incluso mediante la evaluación de la carga tumoral en diversos puntos de tiempo después de la administración de los linfocitos T CAR^+, incluso 3 meses después de la administración, y determinar si el sujeto tenía progresión de la enfermedad (PE), cáncer estable (CE), respuesta parcial (RP) o respuesta completa (RC). Los resultados de seguridad evaluados incluyeron neurotoxicidad (complicaciones neurológicas que incluyen síntomas de confusión, afasia, encefalopatía, crisis epilépticas mioclónicas, convulsiones, letargo y/o estado mental alterado), clasificada en una escala de 1-5, de acuerdo con la escala Criterios de Toxicidad Común del Instituto Nacional del Cáncer (CTCAE), versión 4.03 (NCI-CTCAE v4.03).

C. Resultados

La tasa de respuesta objetiva observada (TRO; incluyendo RC y RP) fue del 71 % (20/28) en los sujetos para los cuales se evaluaron las biopsias. Se observó SLC de grado 1, 2 en el 36 % (10/28; grado 1, 2) de los sujetos para los cuales se evaluaron las biopsias, y NT de grados 2-4 se observaron en el 18 % (5/28) de los sujetos para los cuales se evaluaron las biopsias.

Se observó que las biopsias de tumores previas al tratamiento contenían composiciones de células variables: células

tumorales (mediana: 77 %; intervalo 5-96 %), células $CD4^+$ (0,90 %; 0,02-15 %) y células $CD8^+$ (1,5 %; 0-23 %). Los resultados mostraron que los sujetos con una RC o una RP a los 3 meses después de la administración de linfocitos T CAR^+ tuvo un mayor porcentaje de células $CD4^+$ endógenas en tumores previos al tratamiento en comparación con aquellos con una PE (RC, RP mediana: 7,9 %; PE mediana: 0,38 %; $p < 0,0001$). Los porcentajes de células $CD8^+$ en los tumores previos al tratamiento no difirieron entre los grupos de respuesta a los 3 meses (RC, RP mediana: 1,9%; mediana de PE: 0,47%; $p = 0,6496$).

En las biopsias después del tratamiento, se observó que los linfocitos T CAR^+ se habían infiltrado en el tumor y constituían hasta el 22 % de las células en la muestra de biopsia. Se observó que el nivel de infiltración tumoral en las muestras posteriores al tratamiento (de 7 a 20 días después de la administración) era mayor en los sujetos que consiguieron una RC (mediana: 3,9 %) o una RP (mediana: 1,1 %) en comparación con los sujetos que consiguieron una mejor respuesta global (MRG) de CE o PE (mediana: 0,51 %). Aunque tanto linfocitos T CAR $CD4^+$ como $CD8^+$ se observaron que se habían infiltrado en el área del tumor en el punto de tiempo posterior al tratamiento (de 7 a 20 días después de la administración), se observó que los sujetos que consiguieron una RC tenían una mayor relación de linfocitos T $CD8^+$ CAR^+ con respecto a linfocitos T $CD4^+$ CAR^+, en este punto de tiempo posterior al tratamiento, en comparación con sujetos que consiguieron una MRG de CE o PE (mediana de RC: 0,83; CE, mediana de PE: 0,14; $p = 0,0097$).

Al comparar biopsias coincidentes antes y después del tratamiento de sujetos individuales, los resultados mostraron una tendencia hacia que los sujetos que finalmente alcanzaran una MRG de RC o RP tuvieran un mayor aumento después del tratamiento de células $CD8^+$ (T CAR^+ y T distinto de CAR) en tumores, en comparación con los sujetos que finalmente alcanzaron una MRG de CE o PE (RC, cambio de mediana de RP: +5,3%; CE, cambio de mediana de PE: +0,06%; $p = 0,1225$).

La expresión de factores inmunosupresores, incluyendo CD73, FOXP3, CD163, IDO y PD-L1, varió entre los sujetos antes del tratamiento (CD73 (mediana: 1,5%; intervalo 0-42 %), FOXP3 (0,10 %; 0-1,5 %), IDO (0,06 %; 0-11 %), CD163 (1,2 %; 0-24 %) y PD-L1 (0,16 %; 0-56 %)) y después del tratamiento (CD73 (1,6 %; 0-53 %), FOXP3 (0,09 %; 0-4,3 %), IDO (0,28 %; 0-15 %), CD163 (3,6 %; 0-22 %) y PD-L1 (3,3 %; 0-65 %)). Se observó que los aumentos de células $CD8^+$ posteriores al tratamiento en biopsias coincidentes estaban asociados a aumentos posteriores al tratamiento en la expresión de IDO ($R^2 = 0,64$) y PD-L1 ($R^2 = 0,61$). Este resultado es consistente con la conclusión de que la infiltración de células $CD8^+$ CAR^+ en el momento evaluado pueden indicar una probabilidad potencial de lograr un grado de respuesta o duración de la respuesta, y que la presencia y/o actividad de dichas células puede dar como resultado una regulación por incremento de los factores TME.

D. Conclusión

Se observó que la respuesta duradera en el mes 3 después de la administración de linfocitos T CAR^+ estaba asociada con niveles más altos de células $CD4^+$ en tumores previos al tratamiento. En las células tumorales posteriores al tratamiento, se observó que los linfocitos T CAR^+, tanto $CD4^+$ como $CD8^+$, infiltraban el tumor y el tejido adyacente. La TRO se asoció con un aumento en linfocitos T CAR^+ en la biopsia del tumor. Un aumento de los niveles de $CD8^+$ en la biopsia del tumor posterior al tratamiento en comparación con los niveles de $CD8^+$ en la biopsia del tumor previa al tratamiento estaba asociado a un aumento de la expresión de IDO y PD-L1. En algunas realizaciones, las terapias que se dirigen a estas vías, tales como las administradas en el momento o después de la administración de los linfocitos T-CAR, puede mejorar uno o más resultados terapéuticos o la duración de los mismos después de la administración de linfocitos T CAR^+.

Ejemplo 6 Evaluación adicional de resultados de respuesta y seguridad en sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento después de la administración de células que expresan CAR anti-CD19

Los resultados de respuesta y seguridad se evaluaron en pacientes en un punto posterior en el tiempo en el estudio clínico que se describe en los Ejemplos 1 y 3 anteriores.

A. Sujetos y Tratamiento

El análisis en este punto de tiempo presentado en este ejemplo se basa en una evaluación de un total de 102 sujetos en la cohorte COMPLETA (73 en la cohorte CENTRAL) a los que se les habían administrado las células que expresaban CAR anti-CD19. La cohorte COMPLETA incluyó sujetos que tenían LDLBG (LDLBG, NOS de novo y transformados a partir de linfoma folicular; linfoma de linfocitos B de alto grado (doble/triple impacto); LDLBG transformado a partir de LLC o LZM; LLBMP; y LF3B, ECOG 0-2, después de 2 líneas de terapia; la cohorte CENTRAL para el análisis incluyó sujetos con LDLBG, NOS y transformado a partir de linfoma folicular (LFt) o linfoma de linfocitos B de alto grado (doble/triple impacto) y con un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 0 o 1. También se incluyeron en el estudio sujetos con LCM después de 1 línea de terapia. Aproximadamente el 90 % de los pacientes tratados en la cohorte COMPLETA y la cohorte CENTRAL tenían al menos una característica de enfermedad de bajo riesgo que predecía una mediana de supervivencia global (SVG) corta de 3-6 meses (véase Crump et al., Blood (2017) 130:1800-1808 y Van de Neste et

al., Bone Marrow Transplant. (2016) 51(1):51-7), como expresores de doble/triple impacto, enfermedad primaria resistente a tratamiento, resistente a tratamiento a 2 o más líneas de terapia, nunca consiguieron RC, nunca recibieron un trasplante de células madre autólogo (TCMA) o un ECOG PS de 2.

En este punto de tiempo, un total de 134 sujetos se habían sometido a leucocitaféresis, de los cuales 2 tenían composiciones no disponibles. El producto estuvo disponible para el 99 % de los sujetos sometidos a aféresis (132/134) en la cohorte de LDCBG. De otros 18 sujetos cuyos productos estaban disponibles, 5 se habían retirado y 13 habían desarrollado una enfermedad progresiva o habían muerto. A un total de 114 sujetos se les habían administrado las células que expresan CAR anti-CD19, de los cuales 12 recibieron células que expresan CAR anti-CD19 no conformes (composiciones que no necesariamente cumplen con ciertas especificaciones pero se consideran seguras para la administración). Los sujetos habían recibido DL1 (n=45), dosis doble de DL1 (n=6) o DL2 (n=51). A siete (7) sujetos con linfoma de células del manto (LCM) se les administró células CAR$^+$ en DL1. En este punto de tiempo, ocho (8) sujetos fueron tratados en un entorno ambulatorio.

Los datos demográficos y características de referencia de los sujetos de la cohorte COMPLETA y CENTRAL en el punto de tiempo se exponen en la **Tabla E18.**

Tabla E18. Características de los pacientes: Cohorte de LDLBG		
Característica	**COMPLETA (n = 102)**	**CENTRAL (n = 73)**
Mediana de edad (intervalo), años	61 (20-82)	60 (20-82)
≥0 (20-82) (intervalo	37 (36)	24 (33)
Subtipo de LNH-B, n (%)		
LDLBG, NOS de novo	63 (62)	53 (73)
Transformado a partir de LF (LFt)	23 (23)	20 (27)
Transformado a partir de LZM (LZMt) /LLC (LLCt)	6 (6)/6 (6)	0
Folicular, grado 3B/LLBMP	1 (1)/3 (3)	0
Subtipo molecular, n (%)		
Doble/triple impacto[a]	19(19)	16 (22)
Características del paciente, n (%)L		
ECOG PS 0-1	93 (91)	73 (100)
Norma IPI 3-5	43 (42)	26 (36)
Afectación del sistema nervioso central	2 (2)	1 (1)
Resistente a quimioterapia[b]	71 (70)	49 (67)
Líneas de terapia anteriores, mediana (intervalo)	3 (1-8)	3 (2-8)
Nunca consiguió RC	49 (48)	36 (49)
Cualquier TCMH	41 (40)	28 (38)
Autólogo previo	38 (37)	28 (38)
Alogénico previo	5 (5)	0

TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas. IPI, Índice de Pronóstico Internacional; CE, cáncer estable; OMS, Organización Mundial de la Salud.
[a]Al inicio del ensayo, incluido en LDLBG, histología NOS; basado en los criterios más recientes de la OMS (Swerdlow et al., (2016) Blood 127(20):2375-2390), ahora se consideran linfoma de linfocitos B de alto grado, con reordenamientos de *myc* y *bcl2* y/o *bcl6* con histología de LDLBG (doble/triple impacto).
[b]CE o PE hasta el último régimen que contiene quimioterapia o recaída <12 meses después del TCM autólogo.

B. Resultados de seguridad y respuesta después del tratamiento

La **Tabla E19** muestra el resultado de seguridad de la cohorte COMPLETA y CENTRAL. Como se muestra, no se observaron muertes por SLC o NT. En la cohorte COMPLETA, la mediana de tiempo hasta la aparición de SLC fue de 5 días (intervalo, 2-12 días) y de NT fue de 10 días (intervalo, 3-23 días). En la cohorte COMPLETA, el 17 % (n = 17) recibió tocilizumab y el 21 % (n = 21) recibió corticosteroides para intervenir en la toxicidad. En la cohorte CENTRAL, no se observó ningún aumento en SLC o NT en DL2, en comparación con DL 1.

Tabla E19. Resultados de seguridad después de la administración de células CAR$^+$				
	COMPLETA	**CENTRAL**		
	Todos los niveles de dosis (n = 102	**Todos los niveles de dosis [a] n = 73**	**DL1S n = 33**	**DL2S n = 37**
SLC, n (%)				
Cualquier grado	38 (37)	27 (37)	14 (42)	11 (30)
Grado ½	37 (36)	26 (36)	13 (39)	11 (30)
Grado 3/4 (SLCg)	1 (1)	1 (1)	1 (3)	0

(continuación)

Tabla E19. Resultados de seguridad después de la administración de células CAR+				
	COMPLETA	CENTRAL		
	Todos los niveles de dosis (n = 102	Todos los niveles de dosis [a] n = 73	DL1S n = 33	DL2S n = 37
Neurotoxicidad, n (%)				
Cualquier grado	23 (23)	18 (25)	8 (24)	9 (24)
Grado ½	10 (10)	7 (10)	1 (3)	6 (16)
Grado 3/4 (NTg)	13 (13)	11 (15)	7 (21)	3 (8)
Cualquiera, n (%)				
SLC o NT	44 (43)	32 (44)	15 (45)	15 (41)
SLCg o NTg	13 (13)	11 (15)	7 (21)	3 (8)
[a] Tres pacientes tratados con DL1D (nivel de dosis 1, esquema de dos dosis) con resultados similares.				

La **FIG. 29** representa el porcentaje de sujetos en la cohorte COMPLETA en este punto de tiempo (n = 102) que se observó que habían experimentado alteraciones de laboratorio y acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) (no se incluyen los datos de 6 sujetos con LCM tratados con el producto conforme en DL1 con al menos 28 días de seguimiento; mostrando AADT y alteraciones de laboratorio que ocurren en el 20 % o más de los sujetos).

Como se muestra en la **Tabla E20,** se observaron altas tasas de respuesta en sujetos con LDLBG recurrente o resistente a tratamiento (R/R). Los resultados son consistentes con un efecto de dosis-respuesta sobre el resultado del tratamiento en la cohorte CENTRAL. Los sujetos con una carga tumoral superior a un umbral (como lo indica la medición volumétrica del tumor de la suma de las dimensiones del producto (SPD) de más de 50 cm^2) se distribuyó de manera similar entre los sujetos que recibieron DL1 y DL2 (aproximadamente 1/3 de los sujetos en cada grupo).

Tabla E20. Respuesta después de la administración de células CAR+				
	COMPLETA	CENTRAL		
	Todos los niveles de dosis (n = 102)	Todos los niveles de dosis[a] (n = 73)	DL1S (n=33)	DL2S (n=37)
TRO (IC del 95 %), %	75 (65-83)	80 (68-88)	79 (61-91)	78 (62-90)
RC (IC del 95 %), %	55 (45-65)	59 (47-70)	55 (36-72)	62 (45-78)
TRO a los 3 meses (IC del 95 %), %	51 (41-61)	59 (47-70)	52 (34-69)	65 (48-80)
RC a los 3 meses (IC del 95 %), %	38 (29-48)	45 (34-57)	36 (20-55)	51 (34-68)
TRO a los 6 meses (IC del 95 %), %	40 (31-50)	47 (35-59)	42 (26-61)	49 (32-66)
RC a los 6 meses (IC del 95 %), %	34 (25-44)	41 (30-53)	33 (18-52)	46 (30-63)
[a] Tres pacientes tratados con DL1D (nivel de dosis 1, esquema de dos dosis) con resultados similares.				

Las tasas de respuesta objetiva (TRO) a los seis meses entre diversos subgrupos de sujetos en los subgrupos de LDLBG de bajo riesgo, que incluía todos los pacientes con LDLBG tratados con todos los niveles de dosis en la cohorte CENTRAL, se muestran en la **FIG. 30.** Los resultados mostraron una TRO alta y duradera en el subgrupo de LDLBG de bajo riesgo para la administración de linfocitos T CAR+ anti-CD19.

Los resultados para la duración de la respuesta (DR, con la mediana de seguimiento de 8 meses) y la supervivencia global (agrupados por mejor respuesta global (sujetos que no responden, RC/RP, la RC y/o la RP), con una mediana de seguimiento de 12 meses) se muestran para la cohorte completa y las cohortes de sujetos de la cohorte central, en las **FIGS. 31A-31D.** Los resultados mostraron que en la cohorte CENTRAL, el 88 % de los sujetos con RC a los 3 meses continuaron mostrando RC a los 6 meses, y el 93 % de los sujetos que exhibieron RC a los 6 meses continuaron mostrando una respuesta a más largo plazo.

Los resultados fueron consistentes con una observación de que la administración de composiciones de células CAR+ anti-CD 19 que contienen una dosis precisa y consistente de linfocitos T CAR+ $CD4^+$ y $CD8^+$ da como resultado una respuesta duradera en sujetos con LNH agresivo R/R con mal pronóstico y/o pretratamiento intenso. Los resultados mostraron una tasa de respuesta duradera favorable en la cohorte CENTRAL, con una tasa de TRO del 49 % y una tasa de RC del 46 % a los 6 meses, y el 93 % de los sujetos (en todos los niveles de dosis) en RC a los 6 meses permanecieron en respuesta en este punto de tiempo. Los resultados también fueron consistentes con una toxicidad tratable y un perfil de seguridad favorable, incluidas tasas bajas de SLC grave (1 %) y neurotoxicidad grave (13 %), que, en algunos aspectos, apoya la administración ambulatoria.

Ejemplo 7 Evaluación de la utilización de recursos y parámetros previos al tratamiento y expansión en sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento después de la administración de células que expresan CAR anti-CD19

La utilización de diversos recursos sanitarios y diversos parámetros previos al tratamiento, como los analitos sanguíneos y la carga de enfermedades, y la expansión celular, se evaluaron en pacientes descritos en los estudios clínicos descritos en los Ejemplos anteriores en sujetos con LNH recurrente/resistente a tratamiento que habían recibido las composiciones terapéuticas de linfocitos T que expresan CAR anti-CD19.

Ejemplo 7.I.A. Sujetos y tratamiento

Se llevó a cabo un primer análisis en un punto de tiempo específico del estudio clínico descrito en los Ejemplos 1, 3 y 6. El análisis en este punto de tiempo presentado en este ejemplo se basa en una evaluación de un total de 114 sujetos en la cohorte COMPLETA. En este punto de tiempo, 96 sujetos habían sido tratados en un entorno hospitalario y 18 sujetos habían sido tratados en un entorno ambulatorio.

Los datos demográficos y las características iniciales de los sujetos tratados en entornos hospitalarios y ambulatorios en el punto de tiempo se exponen en la **Tabla E21.**

Tabla E21. Características de los pacientes		
Demografía/Características	**Administración hospitalaria (n=96)**	**Administración ambulatoria (n=18)**
Mediana de edad (intervalo), años	61 (20-82)	60 (23-76)
Hombre, n (%)	66 (69)	13 (72)
Subtipo de LNH-B, n (%)		
LDLBG, NOS de novo	60 (63)	9 (50)
Transformado a partir de LF	22 (23)	5 (28)
Transformado a partir de LZM/LLC	9 (9)	0 (0)
Folicular, grado 3B/LLBMP	2 (2)	4 (22)
Subtipo molecular, n (%)		
Doble/triple impacto	19 (20)	2 (11)
Características de los pacientes		
ECOG PS 0-1 (pre-JCAR017), n (%)	81 (84)	18 (100)
Afectación del SNC, n (%)	2 (2)	0 (0)
Resistente a quimioterapia, n (%)	66 (69)	14 (78)
Líneas de terapia anteriores, mediana (intervalo)	3 (1-8)	2 (1-5)
Nunca consiguió RC, n (%)	47 (49)	9 (50)
Cualquier TCMH, n (%)	39 (41)	6 (33)
Autólogo previo	36 (38)	6 (33)
Alogénico previo	5 (5)	0 (0)
LLC, linfoma linfocítico crónico; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; EGOG PS, Puntuación funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este: LF, linfoma folicular; FL3B, linfoma folicular grado 3B; LZM, linfoma de zona marginal; NOS, no especificado de otra manera; LLBMP, linfoma de linfocitos B mediastínico primario; TCM, trasplante de células madre; IPI, Índice de pronóstico internacional. Al inicio del ensayo, incluido en LDLBG, histología NOS; según los criterios más recientes de la OMS, 3 ahora se consideran linfoma de linfocitos B de alto grado, con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6 con histología de LDLBG (doble/triple impacto), b CE o PE hasta el último régimen que contiene quimioterapia o recaída <12 meses después del TCMH autólogo.		

Ejemplo 7.LB. Resultado de seguridad

La **Tabla E22** muestra resultados particulares relacionados con la seguridad (incidencia de SLC y acontecimientos neurológicos) de los sujetos que habían sido tratados mediante administración en el entorno hospitalario o ambulatorio. El ingreso en la UCI durante un SLC o acontecimientos neurológicos ocurrió en 9 sujetos (9,4 %) que recibieron tratamiento hospitalario y en 1 paciente (5,6 %) que recibió tratamiento ambulatorio.

Tabla E22. Síndrome de liberación de citocinas y acontecimientos neurológicos por sitio de administración		
	Administración hospitalaria (n=96)	**Administración ambulatoria (n=18)**
SLC[a], n (%)		
Cualquier grado	35 (36,5)	6 (33,3)
Grado 1-2	34 (35,4)	5 (27,8)
Grado 3-4 (SLCg)	1 (1,0)	1 (5,6)
Acontecimientos neurológicos,[b] n (%)		
Cualquier grado	20 (20,8)	7 (38,9)
Grado 1-2	8 (8,3)	5 (27,8)

(continuación)

Tabla E22. Síndrome de liberación de citocinas y acontecimientos neurológicos por sitio de administración		
	Administración hospitalaria (n=96)	**Administración ambulatoria (n=18)**
Grado 3-4 (ANg)	12 (12,5)	2 (11,1)
Cualquiera, n (%)		
SLC o AN	39 (40,6)	9 (50)
SLCg o ANg	12 (12,5)	2 (11,1)
SLC, síndrome de liberación de citocinas; AN, acontecimiento neurológico; SLCg, SLC grave; ANg, AN grave. [a]Calificado por Lee, et al. Blood, 2014,7 [b]Calificado según los Criterios de terminología común para Acontecimientos Adversos (CTCAE), versión 4.03.		

Ejemplo 7.IC. Evaluación de biomarcadores, expansión y utilización de recursos

Se evaluó la expresión de biomarcadores LDH, PCR y ferritina en biopsias de tumores recogidas de los sujetos, y la carga tumoral en el sujeto se evaluó mediante una medición volumétrica del tumor de la suma de las dimensiones del producto (SPD), antes de la administración (pre-tratamiento) de células que expresan CAR. La concentración en suero máxima ($C_{máx}$; células CD3+CAR$^+$/µl de sangre) también se determinó en los sujetos después de la administración. Los sujetos fueron agrupados por SPD, LDH, PCR y $C_{máx}$ en o por debajo, o por encima, un valor umbral, o por tratamiento hospitalario o ambulatorio, y se evaluó la asociación con diversos parámetros indicativos de la utilización de recursos sanitarios (días de hospitalización, días en la unidad de cuidados intensivos (UCI), uso de tocilizumab (agente para intervención de toxicidad, (%)) y vasopresor, uso de intubación o diálisis (tratamiento para intervención de toxicidad, (%)).

Las **FIGS. 32A-32F** muestran el uso de diversos parámetros de recursos sanitarios en sujetos agrupados por: $C_{máx}$ de exactamente o inferior a 500 células/µl o superior a 500 células/µl de células CAR$^+$/µl (**FIG. 32A**); SPD exactamente o inferior a 50 cm^2 o superior a 50 cm^2 (**FIG. 32B**); LDH exactamente o inferior a 500 unidades/l o superior a 500 unidades/l (**FIG. 32C**); PCR exactamente o inferior a 10 mg/l y ferritina exactamente o inferior a 5000 ng/ml o PCR superior a 10 mg/l y ferritina superior a 5000 ng/ml **(FIG. 32D),** y en un entorno hospitalario o entorno ambulatorio **(FIGS. 32E-32F).**

Los resultados fueron consistentes con una menor utilización de recursos de atención médica (p. ej., menor uso de tratamientos o intervenciones de toxicidad) en sujetos con una menor carga tumoral previa al tratamiento, expresión de determinados analitos sanguíneos como LDH, PCR y/o ferritina, y/o números máximos más bajos de linfocitos T CAR+ después del tratamiento. En sujetos tratados en el entorno ambulatorio, hubo una reducción del 42 % en la duración de la estancia hospitalaria, en comparación con los tratados en el entorno hospitalario. En general, el uso de intervención para toxicidad, por ejemplo, tocilizumab, intubación, vasopresores y diálisis) fue bajo tanto en los grupos de tratamiento hospitalario como ambulatorio, con el uso de vasopresores se observó que era mayor en los grupos de tratamiento ambulatorio. Los resultados fueron consistentes con la viabilidad de la administración ambulatoria.

Ejemplo 7.II.

En el mismo estudio clínico descrito en el Ejemplo 7.I anterior, la incidencia, la utilización de recursos sanitarios (HRU) y los costos del síndrome de liberación de citocinas (SLC) y acontecimientos neurológicos (AN) se evaluaron en un subconjunto de 102 sujetos que habían recibido una dosis adecuada de composiciones de células CD4/CD8 que expresan CAR anti-CD 19 como se describe en el Ejemplo 6. Se cogió información sobre las características del paciente, incidencia de AA, informes de laboratorio, el uso de las instalaciones y la información de prescripción. La utilización de recursos sanitarios (HRU) dentro de las fechas de inicio y resolución de SLC y AN se identificó para cada sujeto utilizando los métodos descritos en **FIG. 40.** Se identificó la HRU para cada sujeto. Se verificaron las directrices de gestión del ensayo para determinar si la HRU estaba relacionada con SLC y/o AN. Los costos asociados al grado de SLC o AN se aplicaron utilizando bases de datos públicas y bibliografía sobre costos promedio nacionales (**Tabla E22.1**).

Los datos demográficos y características clínicas iniciales de los sujetos se evaluaron mediante el perfil de SLC y/o AN. La incidencia de acontecimientos adversos (AA) se evaluó como se describe en el Ejemplo 1, incluso por grado de SLC y AN según los criterios de Lee et al. (2014) y CTCAE, versión 4.03, respectivamente. Se determinó la aparición de SLC sólo, AN sólo, SLC y AN no concurrentes (es decir, sin superposición entre las fechas de inicio y finalización) y SLC y AN concurrentes.

Se determinó HRU y se estimaron los costos asociados a SLC y AN, incluso basado en diagnósticos, medicación (p. ej., uso de tocilizumab y corticosteroides) y utilización de las instalaciones (p. ej., duración mediana de la estancia (LOS) por grado de SLC y/o AN, y utilización de la unidad de cuidados intensivos (UCI)). Se estimó el costo total medio por grado de SLC y/o AN y se analizó según el perfil de SLC y/o AN.

Tabla E22.1 Entradas de costos[a]		
Entrada	**Valor (Intervalo)**	**Referencia**
Costo por visita al consultorio	114 $	Tasa de Reembolso Nacional OPPS 2018
Costo por día de hospitalización[b]	2.668 $	Proyecto de utilización de la atención médica: muestra nacional de pacientes hospitalizados 2015
Costo por día en UCI[b]	6.546 $	Costo estimado por día en UCI sin ventilación mecánica[d]
Pruebas de laboratorio de diagnóstico	(6 $- 23 $)	Lista de tarifas de laboratorio clínico de 2018 por código HCPCS, tasa de reembolso nacional
Pruebas de diagnóstico	(360 $- 486 $)	Tasas de reembolso nacionales de OPPS y de la lista de tarifas de médicos de 2018
Medicamentos/fármacos[c]	(0,01 $-4.914 $) Por dosis	IBM Truven Micromedex RED BOOK®, Precio WAC
Tocilizumab 80 mg/vial de 4 ml[d]	436,81 $	IBM Truven Micromedex RED BOOK®, Precio WAC

[a]Estos costos se aplicaron a cualquier HRU que cumpliera con los requisitos de temporalidad y pautas desde la perspectiva del proveedor.
[b]inflado a dólares estadounidenses de 2018.
[c]Costos por el monto prescrito.
[d]Tocilizumab se dosifica a 8 mg/kg y los sujetos pueden necesitar más de una dosis. HCPCS, Sistema de codificación de procedimientos comunes de atención sanitaria; HRU, utilización de recursos sanitarios; UCI, unidad de cuidados intensivos; OPPS, Sistema de Pago Prospectivo Ambulatorio; WAC, Costo de adquisición mayorista.

Las características de los pacientes mediante perfil de AA se muestran en la **Tabla E22.2.** De los 102 sujetos evaluados, 44 experimentaron SLC y/o AN, 21 sujetos (21 %) tenían SLC sólo (sin G≥3), 6 sujetos (6 %) tenían sólo AN (sin G≥4), 6 sujetos (6 %) tenían SLC y AN no concurrentes, y 11 sujetos (11 %) tenían SLC y AN concurrentes (incluido 1 SLC G4). De 38/102 (37 %) sujetos que experimentaron SLC, 1 tenía SLC de grado 3/4. De 23/102 sujetos (23 %) que experimentaron AN, 10 (10 %) eran de grado 1/2 y 13 (13 %) eran de grado 3/4. Del subconjunto de 44 sujetos, la mayoría en cada perfil de acontecimientos adversos tenía LDLBG no especificado de otra manera. De estos 44 sujetos, el 70 % tenía acontecimientos G≤2 (31 de 44 sujetos). De los sujetos con tanto SLC como AN, el 94 % tuvo SLC primero (16 de 17 sujetos). De los sujetos con acontecimientos no concurrentes, AN desarrolló una mediana de 2 días después de que se resolvió el SLC. De los 10 de 11 sujetos (91 %) con acontecimientos concurrentes y SLC antes de AN, AN desarrolló una mediana de 3,5 días después de la aparición de SLC.

Tabla E22.2 Características de los sujetos (N=44) con SLC y/o AN por perfil de AA					
	Grado[a]	**n(%)[b]**	**Mediana de edad (Intervalo)**	**Hombre n (%)**	**Tipo de LNH, LDLBG-NOS, n (%)**
SLC solo	Cualquiera	21 (48)	55,7 (26-74)	11 (52,4)	13 (61,9)
	1	13 (30)	57,5 (47-74)	7 (53,8)	8 (61,5)
	2	8 (18)	52,8 (26-68)	4 (50)	5 (62,5)
AN sólo	Cualquiera	6 (14)	64,3 (47-84)	4 (66,7)	3 (50)
	1	1 (2)	47	0	0
	2	3 (7)	62,7 (57-73)	2 (66,70	2 (66,7)
	3	2 (5)	75,5 (67-84)	2 (100)	1 (50)
SLC y AN no concurrentes	Cualquiera	6 (14)	55,8 (33-73)	6 (100)	3 (50)
	SLC y AN <_2	2 (5)	57 (55-59)	2 (100)	0
	SLC o AN >_3	4 (9)	54,5 (29-73)	4 (100)	3 (75)
SLC y AN concurrentes	Cualquiera	11 (25)	54,5 (29-79)	8 (72,7)	8 (72,7)
	SLC y AN <_2	4 (9)	62,25 (51-75)	4 (100)	4 (100)
	SLC o AN >_3	6 (14)	53,7 (37-79)	3 (50)	3 (50)
	SLC y AN >_3	1 (2)	29	1 (100)	1 (100)

[a]Los criterios de Lee se utilizaron para calificar SLC, mientras que para la calificación de los AN se utilizó la versión 4.03 del CTCAE. Determinado por grado máximo.
[b]Todos los porcentajes se calculan utilizando n/44 sujetos.
AA, acontecimiento adverso; SLC, síndrome de liberación de citocinas; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; AN, acontecimiento neurológico; LNH, linfoma no Hodgkin; NOS, no especificado de otra manera

La **Tabla E22.3** expone HRU por grado de toxicidad. De los 38 sujetos con SLC, 11 (29 %) recibieron tocilizumab (11/102, 11 % de los sujetos evaluados en este punto de tiempo), y de los 44 con SLC y/o AN, 21 (48 %) recibieron un corticosteroide (p. ej., dexametasona) (21/102, 21 % de los sujetos evaluados en este punto de tiempo). Como se muestra en la **Tabla E22.3**, las tasas de uso de corticosteroides aumentaron en todos los perfiles de SLC y/o AA a medida que aumentaban los grados de AA.

Tabla E22.3 HRC por grado (N=44)						
	Grado	n	Mediana de LOS, días (intervalo)	Uso de UCI, n (%)	Tocilizumab, n (%)	Corticosteroide, n (%)
SLC solo	1	13	5 (1-11)	0	2 (15,4)	0
	2	8	6 (4-8)	2 (25)	1 (12,5)	4 (50)
AN sólo	1	1	0	0	0	0
	2	3	9 (6-18)	1 (33)	0	2 (66,7)
	3	2	16,5 (12-21)	2 (100)	0	2 (100)
SLC y AN no concurrentes	SLC y AN ≤2	2	6,5 (2-11)	0	1 (50)	1 (50)
	SLC o AN >_3	4	16,5 (11-25)	1 (25)	1 (25)	4 (100)
SLC y AN concurrentes	SLC y AN ≤2	4	10,5 (5-13)	0	2 (50)	1 (25)
	SLC o AN >_3	6	16 (13-56)	3 (50)	3 (50)	6 (100)
	SLC y AN >_3	1	56	1 (100)	1 (100)	1 (100)
SLC, síndrome de liberación de citocinas; HRU, utilización de recursos sanitarios; UCI, unidad de cuidados intensivos; LOS, duración de la estancia; AN, acontecimiento neurológico.						

La **Tabla E23** resume la HCRU y los costos medios para cada incidencia de toxicidad entre los sujetos tratados. Los costos medianos generales para SLC y/o AN G≤2 versus G≥3 fueron 16.533 $ versus 70.666 $. Como se muestra en la **Tabla E23**, los costos de gestión totales medianos para SLC y/o AN fueron impulsados en gran medida por las hospitalizaciones, y oscilaron entre 177-24.945 $ para SLC o AN G≤2 sólo, 31.018 $ para SLC y AN G≤2 concurrentes, y 45.384-263.743 $ para SLC y/o AN G≥3.

Tabla E23. Costos medios por grado (N=44)						
	Grado	**n**	**Diagnóstico**	**Fármacos**	**Instalación [a]**	**Total**
SLC solo	1	13	70 $	332 $	13.341 $	13.743 $
	2	8	249 $	175 $	16.009 $	16.434 $
AN solo	1	1	63 $	0 $	114 $	177 $
	2	3	527 $	406 $	24.013 $	24.945 $
	3	2	1390 $	845 $	76.223 $	79.223 $
SLC y AN no concurrentes	SLC y AN ≤2	2	771 $	2.205 $	17.856 $	20.832 $
	SLC o AN ≥3	4	859 $	444 $	44.081 $	45.384 $
SLC y AN concurrentes	SLC y AN ≤2	4	606 $	2.169 $	28.243 $	31.018 $
	SLC o AN ≥3	6	1450 $	5.128 $	75.653 $	82.231 $
	SLC y AN ≥3	1	3407 $	10.092 $	250.244 $	263.743 $
[a]Los costos de las instalaciones representan visitas al consultorio, hospitalizaciones y estancias en unidades de cuidados intensivos. SLC, síndrome de liberación de citocinas; AN, acontecimiento neurológico.						

Como se muestra en la **FIG. 41**, a medida que aumentaba la gravedad del AA, la LOS total aumentó y las tasas de utilización de la UCI aumentaron para los grupos SLC y AN. Para sujetos con SLC y AN concurrentes, la utilización de recursos de salud en todas las categorías aumentó con 1 o más AA de grado ≥3.

El análisis se basó en un punto de tiempo de un estudio clínico en el que los sujetos tratados con una dosis de linfocitos T que expresan CAR, el 70 % de los SLC y/o AN fueron de grado ≤2. La LOS en hospitales y en UCI se asociaron con los costos de gestión de SLC y/o AN. Los costos de los medicamentos (incluido el tocilizumab) no fueron un componente importante de los costos, considerando que los costes de instalación, estancias hospitalarias primarias y en UCI, representó un promedio del 92,6 % de los costos totales de gestión. Los costos estimados del tratamiento de AA en los sujetos de este estudio y en este punto de tiempo variaron sustancialmente, oscilando desde 177 $ hasta 263.743 $ para este grupo de sujetos. Los acontecimientos de grado ≥3 dieron como resultado un aumento del 327 % en los costos medianos globales frente a los acontecimientos G≤2 (70.666 $ frente a 16.533 $). El 53,8 % de los sujetos (7/13) con acontecimientos de grado ≥3 fueron admitidos en la UCI para el tratamiento de AA, en comparación con el 9,7 % de los sujetos (3/31) que tuvieron acontecimientos de grado ≤2

Estos resultados son consistentes con una observación de que la terapia de linfocitos T CAR asociada a una menor incidencia de AA y SLC y AN de menor grado puede limitar la HRU y los costos.

Ejemplo 8 Evaluación del estado de salud en pacientes con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento después de la administración de células que expresan CAR anti-CD19

Se administraron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas que contienen linfocitos T CD4+ y CD8+

autólogos que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19 a sujetos con linfoma no Hodgkin recurrente y resistente a tratamiento que habían fracasado en 2 líneas de terapia anteriores en el estudio clínico sustancialmente como se describe en Ejemplos 1, 3 y 6.

A. Impacto de los síntomas (Sx) y la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS)

Se evaluaron el impacto de los síntomas, las escalas funcionales y el estado de salud global en sujetos después del tratamiento. Se administró el cuestionario básico de calidad de vida de la Organización Europea para la Investigación y el Tratamiento versión 3.0 (EORTC QLQ-C30) al inicio del estudio (BL), el día 29 (1 mes) y a los meses 2 y 3 para evaluar el impacto de los síntomas, escalas funcionales y estado de salud global, con un intervalo de puntuación 0-100, indicando las puntuaciones más altas una mejor CVRS o una menor carga de síntomas. Los aumentos desde BL ≥10 en las puntuaciones funcionales y de calidad de vida (CV) o las disminuciones desde BL≥10 puntos en las puntuaciones Sx se consideraron mejoras clínicamente significativas. En un punto de tiempo particular del estudio clínico, 87 de 127 sujetos habían sido evaluados al inicio del estudio y en uno o más de los otros momentos (BL+≥ 1 evaluación post-BL). El intervalo de edad promedio de los sujetos evaluables fue de 62 años (desviación estándar de 11 años).

Como se muestra en la **Tabla E24**, las puntuaciones de los síntomas generalmente mejoraron después de la infusión. El estado de salud global medio y las puntuaciones de función emocional y cognitiva mejoraron en comparación con BL entre los meses 1-3 después de la infusión. Las puntuaciones físicas, de rol y función social disminuyeron en el mes 1 frente a BL, seguido de mejoras frente a BL en el mes 2-3. La proporción de sujetos que lograron una mejora clínicamente significativa en dominios particulares 3 meses después de la infusión fue: fatiga, 50 %; dolor, 51 %; función física, 22 %; y el estado de salud global, 41 %.

Estos resultados muestran que en este subconjunto de sujetos, los síntomas y HQRL mejoraron en los sujetos supervivientes, con mejoras clínicamente significativas en dominios preespecificados 2-3 meses después de la infusión.

Tabla E24. Puntuaciones EORTC QLQ-30

Media (DE)	BL (n/N=87/87)	Mes 1 (n/N=73/86)	Mes 2 (n/N=62/82)	Mes (n/N=51/70)
Estado de salud global*	65 (20)	67 (23)	76 (19)	74 (19)
Física*	80 (17)	73 (26)	81 (21)	80 (20)
Rol	70 (28)	67 (31)	80 (28)	75 (28)
Emocional	82 (17)	83 (19)	88 (15)	86 (16)
Cognitivos	84 (17)	87 (19)	91 (16)	88 (18)
Social	71 (24)	68 (29)	77 (27)	80 (25)
Fatiga*	37 (22)	38 (27)	27 (22)	28 (25)
Dolor*	26 (26)	20 (26)	17 (22)	19 (23)
*Dominios preespecificados. n/N = QLQ-C30 completado/total en estudio				

B. Estado de salud ponderado por preferencias después del tratamiento

La puntuación del índice de utilidad de salud y la escala analógica visual [EVA] (EQ-5D-5L), que miden el bienestar de los pacientes y el estado de salud percibido, se analizó en sujetos tratados al inicio del estudio, el día 29 (mes 1), y a los meses 2, 3, 6 y cada 3 meses posteriores. La puntuación del índice EQ-5D-5L se calculó utilizando ponderaciones de preferencia ampliamente utilizadas en Estados Unidos. En un punto de tiempo particular del estudio clínico, 90 sujetos habían sido evaluados al inicio del estudio y en uno o más de los otros momentos (BL+≥ 1 evaluación post-BL). El intervalo de edad promedio fue de 61,7 años (desviación estándar (DE) de 11,2 años).

Como se muestra en la **Tabla E25**, los pacientes habían recibido un tratamiento previo intensivo y el 90 % tenía ≥1 característica de enfermedad de bajo riesgo que predecía una supervivencia global corta.

Tabla E25. Características de los pacientes (Población evaluable EQ-5D-5L)

Demográfica/característica	N=90
Mediana de edad (intervalo), y	64 (24-79)
Hombre, n (%)	63 (70)
Subtipo de LNH de linfocitos B, n (%)	
LDLBG, NOS de novo	71 (79)
linfoma folicular	18 (20)
Linfoma de alto grado con histología LDLBG	1(1)
Subtipo molecular, n (%)	
Doble/triple impacto	14 (16)
Características del paciente	

(continuación)

Tabla E25. Características de los pacientes (Población evaluable EQ-5D-5L)	
Demográfica/característica	**N=90**
ECOG PS 0-1 (pre-LD), n (%)	87 (97)
Afectación del SNC, n (%)	1(1)
Resistente a quimioterapia, n (%)	62 (69)
Nunca consiguió RC, n (%)	31 (34)
Mediana de meses (intervalo) desde el diagnóstico hasta la infusión de linfocitos T CAR+ terapéutica	21,8 (5,202)
Mediana de número de terapias anteriores (intervalo)	3 (2,8)
Trasplante de células madre hematopoyéticas previo, n (%)	33 (37)
SNC, sistema nervioso central; RC, respuesta completa; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; ECOG, Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este; LD, reducción de linfocitos; LNH, linfoma no Hodgkin; NOS, no especificado de otra manera; PS, estado funcional.	

La evaluación del estado de salud EQ-5D estaba compuesta de 5 dimensiones de salud que incluyen movilidad, cuidados personales, actividades habituales, dolor/malestar y ansiedad/depresión, y se calificó como un índice resumido único utilizando un valor estadounidense establecido en una escala de -0,109 a 1. Una puntuación de 0 indicaba muerte, 1 indicaba "salud plena" y las puntuaciones negativas reflejan estados percibidos como peores que la muerte. Un cambio desde el inicio de ≥0,07 en la puntuación del índice resumido único EQ-5D-5L se especificó a priori como un indicador de cambio clínicamente significativo (véase, por ejemplo, Pickard AS, et al. Health Qual Life Outcomes. 2007; 5:70).

Para la evaluación EQ-EVA, se pidió a los sujetos que evaluaran su salud el día de la evaluación colocando una X en una escala numerada del 0-100, donde cero representa la peor salud imaginable y una puntuación de 100 representa la mejor salud imaginable (es decir, puntuaciones más altas indican una mejor salud). El análisis de las puntuaciones observadas incluyó estadísticas descriptivas (por ejemplo, n, media, desviación estándar, mínimo, percentiles y máximo) de las puntuaciones observadas y el cambio desde el inicio en cada momento, y se evaluaron mediante la prueba de rangos con signos de Wilcoxon bilateral para evaluar el cambio desde el inicio del estudio.

Los resultados informados por el paciente (PRO) se evaluaron hasta el mes 6, con tasas de cumplimiento de >57 % (**Tabla E26**).

Tabla E26. Tasas de cumplimiento EQ-5D-5L	
Punto de tiempo de evaluación	**Tasa de cumplimiento, n/N (%)**
Referencia	90/90 (100)
Mes 1	76/89 (85,4)
Mes 2	64/74 (75,3)
Mes 3	52/73 (71,2)
Mes 6	23/40 (57,5)

Como se muestra en la **FIG. 33**, la puntuación media del estado de salud ponderada por preferencia fue 0,83 (DE 0,104 al inicio del estudio), que disminuyó en el mes 1 después de la infusión (-0,012 [DE 0,144]) y aumentó desde el inicio en los meses 2 (0,010 [DE 0,149]) hasta el mes 6 (0,019 [DE 0,133]) después de la infusión. La puntuación media de utilidad del estado de salud inicial del EQ-5D fue inferior a la norma de la población de EE. UU. (puntuación media del índice EQ-5D = 0,867, véase, por ejemplo, Janssen B, et al. Chapter 3. Population norms for the EQ-5D. 26 de sep de 2013. In: Szende A, et al, eds. Self-Reported Population Health: An International Perspective based on EQ-5D [Internet]. Dordrecht, Países Bajos: Springer; 2014.). El cambio medio desde el inicio demostró una disminución en el mes 1, seguido de aumentos desde el inicio desde los meses 2-6 después de la infusión (**FIG. 34**). En el mes 6, el 30 % de los pacientes experimentaron mejoras de ≥0,07, que se cree que representan una mejora clínicamente significativa (**FIG. 35**).

El porcentaje de pacientes que informan problemas moderados, graves o extremos con la movilidad, dimensiones de autocuidado y actividades habituales del EQ-5D-5L aumentaron en el mes 1 después de la infusión (**FIGS. 36A-36C**), y el porcentaje de pacientes que no informaron dolor/malestar ni ansiedad/depresión aumentó desde el inicio hasta 6 meses después de la infusión (**FIGS. 36D-36E**).

Como se muestra en la **FIG. 37**, las puntuaciones medias de calificación de salud global (EQ-EVA) aumentaron monótonamente de 70,2 al inicio del estudio a 83,4 a los 6 meses después de la infusión, superando las estimaciones basadas en anclaje y distribución de diferencia mínimamente importante (8-12 y 7-10, respectivamente). Las calificaciones medias iniciales de EQ-EVA fueron inferiores a la norma de la población de EE.UU. (media de EQ-EVA = 80) (véase, por ejemplo, Jansen B, et al.). El cambio medio desde el inicio en la puntuación EQ-EVA demostró una mejora en el estado de salud global entre los meses 1-6 después de la infusión (**FIG. 38**).

Estos resultados muestran que en este subconjunto de sujetos, el estado de salud medio ponderado por preferencia disminuyó 1 mes después de la infusión, pero aumentó durante los meses 2-6, con mejoras clínicamente significativas que superan un umbral >0,07 en el 30 % de los pacientes 6 meses después de la infusión. Las puntuaciones de calificación de salud global aumentaron desde el inicio hasta el mes 6 después de la infusión.

C. Calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) y estado de salud ponderado por preferencias después de 12 meses de tratamiento

La calidad de vida, los síntomas y el impacto en la utilidad para la salud se evaluaron en los sujetos en un punto de tiempo posterior en el mismo estudio descrito en los Ejemplos 8.A y 8.B anteriores. En este punto temporal en el estudio clínico, los parámetros se evaluaron en los sujetos al inicio del estudio (BL; antes de la infusión de linfocitos T CAR$^+$), día 29 (mes 1) y meses 2, 3, 6, 9, 12, 18 y 24 después de la infusión de linfocitos T CAR$^+$. Un cambio de ≥10 puntos (aumento para el estado funcional/saludable y disminución para los síntomas) en la puntuación de la escala de BL se consideró clínicamente significativo (es decir, un cambio que un paciente identificaría como importante). Las proporciones de sujetos con cambios clínicamente significativos (es decir, mejora o empeoramiento de 10 puntos) en dominios preespecificados de EORTC QLQ-C30 se calcularon en función de las puntuaciones de cambio de BL a 6 y 12 meses. Adicionalmente, el cambio medio desde BL se calculó para la puntuación del índice de estado de salud (EQ-5D) y el EQ-EVA del EQ-5D-5L.

En el momento de la evaluación, 181 de 268 sujetos (edad media, 60 años) fueron evaluables para el cuestionario EORTC QLQ-C30 y 186 sujetos (edad media, 60 años) fueron evaluables para el cuestionario EQ-5D-5L. Los datos demográficos y las características iniciales en un punto de tiempo en el que la mediana del tiempo de seguimiento del estudio fue de 8,7 y 8,8 meses para las poblaciones evaluables de EORTC QLQ-C30 y EQ-5D-5L, respectivamente, se muestra en la **Tabla E26.1.** Las tasas de participación en la encuesta de resultados informadas por los pacientes fueron de un mínimo del 63 % para los sujetos con al menos 6 meses de seguimiento; el 75 % de los sujetos con al menos 12 meses de seguimiento completaron las encuestas.

Tabla E26.1 Datos Demográficos y Características de Referencia

	Categoría	QLQ-C30 EORTC (n=181)	EQ-5D-5L (n=186)
Edad media (DE) (años),		60,2 (14,0)	60,1 (13,9)
Sexo, n (%)	Hombre	117 (65)	121 (65)
Raza, n (%)	Blanca	155 (86)	158 (85)
Linfoma celular, Tipo de B-n (%)	LDLBG NOS,	98 (54)	99 (53)
	incluyendo LAG, Doble/triple impacto	19 (10)	21 (11)
	LDLBG indolente transformado a partir de linfoma	50 (28)	51 (27)
	LLBMP	13 (7)	14 (8)
	LF3B	1(1)	1(1)
ECOG PS en la selección, n (%)	0	73 (40)	73 (39)
	1	107 (59)	112 (60)
U/l,[a] n(%) LDH ≥500		29 (16)	30 (16)
cm^2,[a] n (%) DPS ≥50		44 (25)	45 (25)
mg/l, [a] PCR ≥20 n(%)		97 (45)	101 (54)
Resistente a tratamiento o recurrente, n (%)	Resistente a tratamiento	141 (78)	145 (78)
	Recaída	40/922)	41 (22)
desde el diagnóstico de meses medio (DE) de CAR-T+ elegible hasta la infusión de células,		32,3 (35,7)	32,3 (35,4)

[a]Porcentajes basadosen el número de pacientes con resultados no faltantes.
PCR, proteína C reactiva; ECOG PS, Estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este; FL3B, linfoma folicular grado 3B; LAG, linfoma de alto grado; LDC, quimioterapia con reducción de linfocitos;
LDH, lactato deshidrogenasa; LLBMP, linfoma de linfocitos B mediastínico primario; CE, desviación típica; SPD, suma del producto de diámetros perpendiculares.

Los resultados en este punto de tiempo se resumen en la **Tabla E26.2.** Para dominios de interés preespecificados en el EORTC QLQ-C30, las puntuaciones medias en el estado de salud global mostraron una mejora entre los meses 1 y 12 en comparación con BL, mientras que el funcionamiento físico disminuyó en el mes 1, seguido de mejoras en comparación con BL en los meses 2 a 12. La carga de síntomas de fatiga notificada permaneció similar en el mes 1, seguida de una mejora entre los meses 2 y 12 después de la infusión en comparación con BL. Aunque la media de los síntomas de dolor fue consistentemente menor entre los meses 1 y 12 en comparación con BL, la carga media de síntomas fluctuó. El cambio medio desde la puntuación BL osciló entre 4,3 y 16,9 en el estado de salud global, de -4,8 a 6,5en funcionamiento físico, de -15,5 a 0,0 para fatiga y de -8,8 a -1,8 en puntuaciones de dolor hasta el mes 12. En comparación con los resultados de la población general de Estados Unidos, basándose en

los valores de referencia de EORTC QLQ-C30, los sujetos del estudio tuvieron puntuaciones medias comparables del EORTC QLQ-C30 para la mayoría de los dominios en BL, que se mantuvieron o mejoraron hasta el mes 12. Una parte de los sujetos demostró una mejora clínicamente significativa en los meses 6 y 12 en el estado de salud global (52 % y 61 %), funcionamiento físico (30 % y 37 %), fatiga (53 % y 61 %), y dolor (35 % y 47 %), respectivamente. Las puntuaciones medias del índice de servicios de salud EQ-5D-5L con base en EE.UU. disminuyeron 1 mes después de l Infusión de linfocitos T CAR$^+$, a lo que siguieron fluctuaciones en las puntuaciones entre los meses 2 y 3 y luego una mejora entre los meses 6 y 12 en comparación con BL. Las puntuaciones medias de EQ-EVA mostraron una mejora entre los meses 1 y 12 en comparación con BL.

Tabla E26.2 Resumen medio (DE) de las puntuaciones EORTC QLQ-C30, puntuaciones del índice EQ-5D-5L y EQ-5D-EVA

		Dominios de interés de EORTC QLQ-C30				EQ-5D-5L	
Dominio	Estadísticas	Estado de salud global	Funcionamiento físico	Fatiga	Dolor	Puntuación del índice de salud	EQ-EVA
Datos de normas de población general, EE.UU [a,b]	Media (DE)	63,9 (22,9)	80,8 (25,2)	31,9 (27,8)	27,5 (30,2)	ND	ND
Referencia	N	181	181	181	181	186	186
	Media (DE)	62,3 (20,3)	77,8 (19,2)	38,2 (21,8)	25,6 (25,8)	0,817 (0,120)	68,3 (19,5)
Mes 1	N	160	160	160	160	165	164
	Media (DE)	66,4 (21,9)	72,7 (24,8)	37,7 (26,0)	20,0 (24,8)	0,794 (0,157)	70,3 (20,2)
Mes 2	N	146	147	147	147	150	149
	Media (DE)	74,5 (18,9)	80,8 (19,7)	27,1 (21,1)	17,7 (21,7)	0,837 (0,136)	77,1 (17,2)
Mes 3	N	135	134	134	135	138	138
	Media (DE)	72,7 (19,7)	79,6 (19,5)	30,2 (22,8)	22,7 (24,2)	0,822 (0,145)	75,4 (18,9)
Mes 6	N	81	81	81	81	85	84
	Media (DE)	74,3 (18,6)	80,2 (18,9)	28,5 (20,9)	17,9 (23,2)	0,833 (0,122)	78,0 (18,0)
Mes 9	N	65	65	65	65	65	65
	Media (DE)	75,8 (16,5)	81,1 (18,1)	27,5 (19,7)	24,4 (24,7)	0,833 (0,122)	80,1 (15,6)
Mes 12	N	38	38	38	38	38	38
	Media (DE)	79,8 (20,1)	83,2 (20,3)	23,4 (23,5)	18,4 (25,9)	0,848 (0,157)	82,1 (17,8)

ND= no disponible

[a]Datos normales de EORTC QLQ-C30 para la población general de EE.UU. (N=1009) (Nolte Set al. *Eur J Cancer.* 2019; 107:153-163)

[b]Las evaluaciones de resultados informadas por los sujetos se implementaron en el estudio después de un cambio de protocolo; por lo tanto, sólo los sujetos inscritos después de este cambio fueron elegibles para las evaluaciones. El número de evaluaciones disminuye en 12 meses debido a la pérdida de seguimiento, muertes, duración del estudio y otras razones.

Para EORTC QLQ-C30, un cambio desde el inicio del estudio de ≥10 puntos (MID) se consideró una diferencia clínicamente significativa. El cambio medio desde el inicio hasta los 12 meses en el estado de salud global fue de 4,3 a 16,9 (**FIG. 52A**), el funcionamiento físico fue de -4,8 a 6,5 (**FIG. 52B**), la fatiga fue de -15,5 a 0,0 (**FIG. 53A**) y el dolor fue de -8,8 a -1,8 (**FIG. 53B**). Una mayor proporción de sujetos experimentó mejoras clínicamente significativas que deterioro en todos los puntos de tiempo de este estudio en áreas que incluyen el estado de salud global (**FIG. 54A**), funcionamiento físico (**FIG. 54B**; con excepción del mes 1), fatiga (**FIG. 54C**) y dolor (**FIG. 54D**).

El cambio medio desde el inicio en la puntuación del índice de salud disminuyó en el mes 1, seguido de fluctuaciones en las puntuaciones entre los meses 2 y 3 y una mejora en los meses 6 al 12 (**FIG. 55A**). El cambio medio desde el inicio en EQ-EVA aumentó durante el mes 1 y más allá, oscilando entre 9,1 y 11,9 en los meses 6 y 12, respectivamente (**FIG. 55B**).

Los resultados mostraron que el tratamiento con linfocitos T que expresan CAR anti-CD 19 mejoró significativamente la experiencia de los pacientes, según lo medido por los resultados informados por los pacientes. Los resultados mostraron que en este estudio, los sujetos de la cohorte LDLBG experimentaron una mejora en la CVRS y la utilidad para la salud hasta el mes 12, aunque algunos informaron un detrimento en el mes 1. También se observó la reducción de la carga de síntomas de fatiga y dolor hasta el mes 12 después de la infusión de linfocitos T CAR$^+$. La

CVRS y la carga de síntomas (EORTC QLQ-C30) mejoraron desde el mes 1 y durante 12 meses después de la administración de linfocitos T que expresan CAR anti-CD 19. La proporción de pacientes con mejoras clínicamente significativas en su CVRS y carga de síntomas fue mayor que la proporción de pacientes con deterioro. Además, los pacientes con respuestas clínicas tenían más probabilidades de experimentar mejoras clínicamente significativas en su CVRS que los pacientes que no tuvieron una respuesta clínica. Después de la administración de linfocitos T que expresan CAR anti-CD19, las puntuaciones del índice de estado de salud (EQ-5D-5L) y la salud autoevaluada (EQ-EVA) mejoraron ya en el mes 1, y luego mejoraron de manera constante desde los meses 3 al 12. Estos resultados respaldan el hallazgo de que proporciones notables de sujetos demostraron mejoras clínicamente significativas en los meses 6 y 12 después de la infusión de linfocitos T CAR$^+$.

Ejemplo 9 Administración de células que expresan CAR anti-CD19 a sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento y linfoma secundario del SNC

Se administraron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas que contienen linfocitos T CD4+ y CD8+ autólogos que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19 a sujetos con linfoma no Hodgkin recurrente y resistente a tratamiento que habían fracasado en 2 líneas de terapia anteriores en el estudio clínico sustancialmente como se describe en Ejemplos 1, 3 y 6. En el estudio, los sujetos elegibles para el tratamiento incluyeron sujetos con linfoma secundario del SNC que podría estar presente al inicio del estudio o, si se desarrolló linfoma secundario del SNC durante el estudio clínico, los sujetos podrían continuar recibiendo la composición terapéutica de linfocitos T CAR anti-CD19. Los sujetos tratados inicialmente con una única infusión inicial de composiciones de linfocitos T CAR$^+$ y aquellos que recibieron retratamiento se incluyeron. Los sujetos se monitorearon para determinar la respuesta y la seguridad como se describe en el Ejemplo 1, incluso evaluando la eficacia según los criterios de Lugano y el grado de SLC y AN según los criterios de Lee et al. (2014) y CTCAE, versión 4.03, respectivamente.

En el estudio, a los sujetos se les había administrado una dosis única de células que expresan CAR anti-CD 19 como una composición definida mediante la administración separada de una población formulada de células CD4$^+$ CAR$^+$ y una población formulada de CD8$^+$ CAR$^+$ administrada en una relación objetivo de aproximadamente 1:1 (cada dosis única mediante infusiones separadas de linfocitos T que expresan CAR CD4$^+$ y linfocitos T que expresan CAR CD8$^+$, respectivamente) de la siguiente manera: una dosis única de nivel de dosis 1 (DL-1) que contenía 5 × 10^7 linfocitos T que expresaban CAR totales o una dosis única de nivel de dosis 2 (DL-2) que contenía 1 × 10^8 linfocitos T que expresaban CAR totales. Los sujetos que consiguieron una respuesta completa después de la primera dosis pero que progresó más tarde pudieron recibir una segunda dosis (retratamiento).

La **Tabla** E27 presenta los datos demográficos de paciente de sujetos analizados en este estudio que tenían linfoma secundario del SNC, que incluyó 3 pacientes en DL1 y 6 pacientes en DL2 en este momento del análisis. La mediana de edad de los pacientes con linfoma secundario fue de 60 años y habían recibido una mediana de 3 terapias anteriores. La aparición del linfoma secundario del SNC varió: de los sujetos tratados, nueve (9) sujetos tenían linfoma secundario del SNC ya sea en el tratamiento inicial (n=6), antes del retratamiento (n=2) o en el ciclo (n=1). Un décimo paciente tuvo un diagnóstico de linfoma secundario del SNC en el momento del tratamiento inicial, pero luego se le diagnosticó afectación aislada del plexo braquial (sin afectación del SNC) y no se incluyó en el análisis.

Tabla E27. Resumen de datos demográficos del sujeto (sujetos con LDLBG)

Datos demográficos	Infusión inicial (n=6) [a]	Retratamiento [a,b] (n = 2)	Todos los sujetos con LDLBG (n = 8)	Paciente con LCM (n=1) [c]
Edad, mediana (intervalo), años	62 (47-3)	52 (50-52)	60 (47-73)	59
Sujetos masculinos, n	3	1	4	1
Mediana de SPD[d] (intervalo), cm^2	19 (5-134)	37 (20-54)	20 (5-134)	99
Mediana de LDH (intervalo), U/l	247 (154-1085)	505,5 (505-506)	303,5 (154-1085)	526
Número anterior de terapias, mediana (intervalo)	3 (2-5)	3,5 (3-4)	3 (2-5)	2
TCMH previo, n	2	1	3	1
Resistente a tratamiento previo, n (%)	6	1	7	ND
Linfoma de doble/triple impacto, n (%)	1	1	2	ND
Sólo afectación parenquimatosa, n	1	1	2	1
Sólo afectación leptomeníngea, n	3	1	4	0

(continuación)

Tabla E27. Resumen de datos demográficos del sujeto (sujetos con LDLBG)				
Datos demográficos	**Infusión inicial (n=6)** [a]	**Retratamiento** [a,b] **(n = 2)**	**Todos los sujetos con LDLBG (n = 8)**	**Paciente con LCM (n=1)** [C]
Afectación tanto parenquimatosa como leptomeníngea, n	1	0	1	0
[a]Incluye solo sujetos con LDLBG. [b] El retratamiento se definió como una segunda dosis de linfocitos T CAR+ administrados a sujetos que lograron una respuesta completa después de la primera dosis pero luego progresaron. [C] El sujeto con LCM tenía afectación del SNC en la infusión inicial de linfocitos T CAR+. [d] La SPD mide únicamente los sitios de afectación del linfoma fuera del SNC. TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LDH, lactato deshidrogenasa; ND, no disponible SPD, suma del producto de las dimensiones perpendiculares más largas.				

Como se muestra en la **Tabla E28,** los sujetos con LDLBG R/R y con linfoma secundario del SNC mostraron un alto grado de heterogeneidad, incluso con respecto a diferentes histologías y diversos tipos de afectación del SNC. Las diferentes histologías incluyeron LDLBG transformado a partir de linfoma folicular, LDLBG no especificado de otra manera y linfoma de linfocitos B de alto grado con reordenamientos MYC y BCL2 y/o BCL6. Se observaron diversos tipos de afectación del SNC que incluyeron enfermedad leptomeníngea, lesiones parenquimatosas focales, múltiples lesiones, afectación dural y afectación nerviosa.

Tabla E28. Características individuales del sujeto: afectación activa del SNC en el momento de la administración de la composición de linfocitos T CAR+.[a]

Número de sujeto	Nivel de dosis	Edad (años) Sexo	Enfermedad primaria	Linfoma secundario activo del SNC en el momento del tratamiento con composición de linfocitos T CAR+	Tipo de afectación del SNC	SPD (cm^2)	LDH (U/ml)	Número de terapias anteriores	TCMH previo, S/N
1	DL1	67 mujer	LDLBG (LFI)	Tratamiento inicial	Parenquimatoso (lóbulo temporal derecho)	16,8	154	5	S (Alo)
2	DL1	60 hombre	LDLBG (LFI)	Tratamiento inicial	Afectación dural, aumento leptomeníngeo/parenquimatoso[c]	5,2	238	3	S (Auto)
3	DL2	73 hombre	LDLBG NOS	Tratamiento inicial	Leptomeníngea d	20,4	231	2	N
4	DL2	47 mujer	LDLBG NOS	Tratamiento inicial	Leptomeníngea y parenquimatosa	9,0	352	3	N
5	DL2	64 hombre	LLBAG, DH	Tratamiento inicial	Leptomeníngea	132,4	255	2	N
6	DL2	60 mujer	LDLBG NOS	Tratamiento inicial	Leptomeníngea	133,9	1085	3	N
7	DL2	59 hombre	LCM	Tratamiento inicial	Parenquimatosa	98,9	526	2	S (Auto)
8	DL1	52 mujer	LDLBG NOS[b]	Retratamiento después de la PE en D280	Leptomeníngea	53,7	506	3	S (Auto)
9	DL2	50 hombre	LLBGA[c]	Retratamiento después de la PE en D90	Parenquimatosa	19,6	505	4	N

[a]Dos pacientes adicionales tuvieron afectación del SNC; en la selección en 1 paciente que se resolvió antes de recibir composiciones de linfocitos T CAR+, y durante una línea de terapia anterior en 1 paciente. [b]SPD se basa en una enfermedad sistémica. [c]El LCR era negativo y había aumento leptomeníngeo. [d]El paciente tuvo afectación de la caverna de Meckel que se resolvió. [e]
Se detectó enfermedad del SNC antes del retratamiento administrado el día 568; los datos presentados en la tabla son posteriores al retratamiento después de una recaída que afectó al SNC. [f]La propagación de LDLBG al SNC se detectó después de que se administrara la primera dosis de composiciones de linfocitos T CAR+ durante la evaluación de posible neurotoxicidad manifestada por somnolencia, confusión, pérdida parcial del campo visual con "señal alta inespecífica que podría estar relacionada con un edema temporal sutil" con afectación leptomeníngea en las imágenes. El paciente tuvo RC el día 29 después del primer tratamiento. Después del retratamiento en el día 133, no se informó neurotoxicidad pero el LDLBG progresó 29 días después del retratamiento
Alo, alogénico; Auto, autólogo; SNC, sistema nervioso central; LCR, líquido cefalorraquídeo; DL, nivel de dosis; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LDH, lactato deshidrogenasa; LCM, linfoma de células del manto; NOS, no especificado de otra manera; NI, no informado; PE, progresión de la enfermedad; CE, cáncer estable; SPD, suma del producto de las dimensiones perpendiculares más largas; LFI, transformado a partir de linfoma folicular.

La mediana del tiempo hasta la expansión máxima de linfocitos T CAR$^+$ fue de 12,5 días (mediana de 7-112 días). La **Tabla E29** proporciona un resumen de los acontecimientos adversos durante el tratamiento en el grupo de sujetos con linfoma secundario del SNC y el punto de tiempo evaluado en este estudio. Como se muestra en la Tabla E29, de los sujetos con linfoma secundario del SNC, 1 de 9 tenía síndrome de liberación de citocinas (SLC) de grado (G) 2 y AN G3; la aparición de SLC ocurrió el día 1 (grado 1), con progresión al grado 2 el día 2 y la aparición de AN de grado 3 ocurrió el día 6 con disminución del nivel de conciencia (días 6-13) y disfagia (días 17-18). Otros AN de bajo grado incluyeron confusión, temblores, disartria, letargia, agitación, rigidez, mirada medial, nistagmo bilateral, pupila izquierda dilatada, espasticidad, disfonía y disfagia.

Ningún sujeto que había sido sometido a retratamiento tuvo SLC o AN, sin embargo, los 3 sujetos que recibieron nuevo tratamiento tenían SLC de bajo grado en el momento del tratamiento inicial. Un sujeto que volvió a recibir tratamiento tuvo un AN de edema temporal G2 cuando recibió el tratamiento inicial con la composición terapéutica de linfocitos T CAR+ anti-CD 19 y antes del diagnóstico formal de linfoma secundario del SNC. Entre los sujetos evaluados con linfoma secundario del SNC, los sujetos recibieron levetiracetam profiláctico y 1 sujeto recibió corticosteroides y tocilizumab.

Tabla E29. Resultados individuales del sujeto - Acontecimientos adversos durante el tratamiento

Número de sujeto	Nivel de dosis	Edad (años) Sexo	Enfermedad primaria	Tipo de afectación del SNC	SLC[a]	AN[a]	AADT en SOC Sistema nervioso/trastornos psiquiátricos (cualquier grado)	AA graves
1	DL1	67 mujer	LDLBG (LFt)	Parénquima (lóbulo temporal derecho)	Ninguno	Ninguno	Síncope, hemorragia intracraneal[b], mareos, ansiedad	trombocitopenia, síncope, hemorragia intracraneal[b]
2	DL1	60 hombre	LDLBG (LFt)	Afectación dural, Leptomeníngea/aumento parenquimatoso [c]	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Neutropenia febril, neumonía atípica, neumonía
3	DL2	73 hombre	LDLBG NOS	leptomeníngea [d]	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
4	DL2	47 mujer	LDLBG NOS	Leptomeníngea y parenquimatosa	Ninguno	Ninguno	neuropatía periférica, dolor de cabeza	Ninguno
5	DL2	64 hombre	LLBAG, DH	leptomeníngea	Ninguno	Ninguno	Parálisis del VI nervio, diplopía, estado de confusión, disartria, cefalea, insomnio, letargia	diplejía
6	DL2	60 mujer	LDLBG NOS	leptomeníngea	Sí Grado 2 Tocilizumab Siltuximab	Sí Grado 3 Dexametazona Solumedrol	Nivel de conciencia deprimido, agitación, nistagmo, estado de confusión, disartria, letargia, espasticidad muscular, temblor, parálisis facial, cefalea, hipoestesia	Nivel de conciencia deprimido
7	DL2	59 hombre	LCM	Parenquimatoso	Ninguno	Ninguno	Ansiedad, hipoestesia, cefalea, insomnio	Ninguno
8	DL1	52 mujer	LDCBG NOSc	leptomeníngea	Ninguno	Ninguno	Somnolencia	Aspergilosis broncopulmonar
9	DL2	50 hombre	LDLBG de alto grado [d]	Parenquimatoso	Ninguno	Ninguno	Los mareos, cefalea, neuropatía sensorial periférica	cefalea, náuseas, vómitos

a Se muestra la peor nota y la intervención. b Aunque grave, el acontecimiento de hemorragia intracraneal se consideró Grado 1 y se asoció causalmente a la trombocitopenia crónica del sujeto. c Se detectó enfermedad del SNC antes del retratamiento administrado el día 568; los datos presentados en la tabla son posteriores al retratamiento después de una recaída que afectó al SNC. d Sujeto con afectación de la cueva de Meckel que se resolvió. f Se detectó la propagación de LDLBG al SNC después de que se administrara la primera dosis de composiciones de linfocitos T CAR+ durante la evaluación de posible neurotoxicidad manifestada por somnolencia, confusión, pérdida parcial del campo visual con "señal alta inespecífica que podría estar relacionada con un edema temporal sutil" con afectación leptomeníngea en las imágenes. El sujeto tuvo una RC el día 29 después del primer tratamiento. Después del retratamiento en el día 133, no se informó neurotoxicidad pero el LDLBG progresó 29 días después del tratamiento. Después del retratamiento en el día 133, no se informó neurotoxicidad pero el LDLBG progresó 29 días después del retratamiento.
AA, acontecimiento adverso; SNC, sistema nervioso central; LCR, líquido cefalorraquídeo; RC, respuesta completa; SLC, síndrome de liberación de citocinas; DL, nivel de dosis; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; LCM, linfoma de células del manto; AN, acontecimiento neurológico; NOS, no especificado de otra manera; SOC, clase de órgano sistémico; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento; LFt, transformado a partir de linfoma folicular.

Otras toxicidades informadas fueron predominantemente citopenias y no hubo muertes relacionadas con el tratamiento relacionadas con AA (**Tabla E30**).

Tabla E30. Resumen de AA (sujetos con LDLBG)				
	Infusión inicial [a], (n = 6)	**Retratamiento[a,b] (n = 2)**	**Todos los sujetos con LDLBG (n = 8)**	**Paciente con LCM (n=1)[c]**
Todos los AADT	6	2	8	1
Grado 3 o 4	5	2	7	1
Grado 5	0	0	0	0
AAG	3	2	5	0
TLD	0	0	0	0
a Incluye solo sujetos con LDLBG. b El retratamiento se definió como una segunda dosis de linfocitos T CAR+ administrados a sujetos que lograron una respuesta completa después de la primera dosis pero luego progresaron AA, acontecimiento adverso; TLD, toxicidad limitante de la dosis; AAG, acontecimientos adversos graves; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.				

La respuesta se evaluó utilizando los criterios de Lugano y se resumen en **Tablas E31** y **E32.** Cuatro (4) sujetos con linfoma secundario del SNC respondieron al tratamiento y de ellos todos tuvieron la mejor respuesta de respuesta completa, de los cuales 2 están en curso a los 270 y 545 días posteriores al tratamiento. Las 4 respuestas ocurrieron después del tratamiento inicial con las composiciones terapéuticas de linfocitos T. Ninguno de los sujetos retirados respondió.

Tabla E31. Resumen de eficacia (sujetos con LDLBG)				
	Infusión inicial [a], (n = 6)	**Retratamiento[a,b] (n = 2)**	**Todos los sujetos con LDLBG (n = 8)**	**Paciente con LCM (n=1)[c]**
Mejor TRO,[d] n	4	0	4	0
Mejor TRC, n	4	0	4	0
Tiempo hasta RC, mediana (intervalo)	1,4 (0,9-8,7)	0	1,4 (0,9-8,7)	ND
SSP, mediana (IC del 95 %), meses	2,9 (0,2-NA)	ND	2,9 (0,2-NA)	ND
SVG	10,7 (0,5-NA)	ND	10,7 (0,5-NA)	ND
Mediante de seguimiento	24,1 (12,3-24,1)	ND	24,1 (12,3-24,1)	ND
Sujetos aún en respuesta, n	2	0	2	0
Sujetos que murieron (progresión de la enfermedad), n	4	2	6	0
[a]Incluye solo sujetos con LDLBG. [b] El retratamiento se definió como una segunda dosis de linfocitos T CAR+ administrados a sujetos que lograron una respuesta completa después de la primera dosis pero luego progresaron. [C] la mejor respuesta fue cáncer estable. [d] La mejor TRO se consideró la respuesta a la dosis de linfocitos T CAR+ que se administró después de que se diagnosticara un linfoma secundario del SNC. RC, respuesta completa; TRC, tasa de RC; ND, no disponible; NA, no alcanzado; TRO, Tasa de respuesta global; SVG, supervivencia global; SSP, supervivencia sin progresión.				

Tabla E32. Resultados individuales del sujeto - eficacia y duración de la respuesta

Número de sujeto	Nivel de dosis	Edad (años) Sexo	Enfermedad primaria	Linfoma secundario activo del SNC en el momento del tratamiento con composición de linfocitos T CAR+	Tipo de afectación del SNC	Mejor respuesta [a]	Duración de la respuesta (días)	Estado de la última visita/sitio de progresión
1	DL1	67 mujer	LDLBG (LFt)	Tratamiento inicial	Parénquima (lóbulo temporal derecho)	RC[b]	65	Muerte sist.
2	DL1	60 hombre	LDLBG (LFt)	Tratamiento inicial	Afectación dural, Leptomeníngea/aumento parenquimatoso [c]	RC	533+ (en curso)	Vivo
3	DL2	72 hombre	LDLBG NOS	Tratamiento inicial	Leptomeningea [d]	RC	239+ (en curso)	Vivo
4	DL2	47 mujer	LDLBG NOS	Tratamiento inicial	Leptomeníngea y parenquimatosa	PE	ND	Muerte sist. + SNC
5	DL2	64 hombre	LLBAG, DH	Tratamiento inicial	Leptomeníngea	PE	ND	Muerte Clín. Prog.
6	DL2	60 mujer	LDLBG NOS	Tratamiento inicial	Leptomeníngea	RC	59	Muerte sist. + SNC
7	DL2	59 hombre	LCM	Tratamiento inicial	Parenquimatoso	CE	ND	Vivo sist. + SNC
8	DL1	53 mujer	LDLBG NOS [e]	Retratamiento después de la PE en D181	Leptomeníngea	PE	ND	Muerte sist. + SNC
9	DL2	50 hombre	LLBAG f	Retratamiento después de la PE en D89	Parenquimatoso	PE	ND	Muerte sist. + SNC

[a]La mejor TRO se consideró la respuesta a la dosis de composiciones de linfocitos T CAR+ que se administró después de que se diagnosticara el linfoma secundario del SNC [b] Progresó en el día 92 según el diagnóstico mediante biopsia. Después de la biopsia, el paciente volvió a RC y mantuvo esa RC hasta el día 366, cuando recayó sistémicamente, pero no en el SNC. [c]Se detectó enfermedad del SNC antes del retratamiento administrado el día 568; los datos presentados en la tabla son posteriores al retratamiento después de una recaída que afectó al SNC [d]El paciente tenía afectación de la cueva de Meckel que se resolvió antes de recibir composiciones de linfocitos T CAR+. [e]El LCR era negativo y había aumento leptomeníngeo.

[f]La propagación de LDLBG al SNC se detectó después de que se administrara la primera dosis de composiciones de linfocitos T CAR+ durante la evaluación de posible neurotoxicidad manifestada por somnolencia, confusión, pérdida parcial del campo visual con "señal alta inespecífica que podría estar relacionada con un edema temporal sutil" con afectación leptomeníngea en las imágenes. El paciente tuvo RC el día 29 después del primer tratamiento. Después del retratamiento en el día 133, no se informó neurotoxicidad pero el LDLBG progresó 29 días después del retratamiento.

Clín Prog. Progresión clínica. SNC, sistema nervioso central; RC, respuesta completa; LCR, líquido cefalorraquídeo; DL, nivel de dosis; DH, doble impacto; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; LCM, linfoma de células del manto; ND, no disponible; NOS, no especificado de otra manera; PE, progresión de la enfermedad; CE, cáncer estable; LFt, transformado a partir de linfoma folicular.

Estos resultados son consistentes con el hallazgo de que la composición de linfocitos T CAR+ anti-CD 19 administrada pudo administrarse de manera segura a sujetos con linfoma secundario del SNC, que es una población con una necesidad médica altamente insatisfecha ya que existen opciones de tratamiento limitadas y un mal pronóstico. El linfocito T CAR+ anti-CD 19 administrado demostró una toxicidad y actividad clínica tratables en esta población de sujetos. No se observó exceso de AN en esta población, y solo 1 sujeto demostró AN graves (grado 3) y SLC (grado 2). La respuesta o resistencia a los linfocitos T que expresan CAR anti-CD19 fue similar en los sitios de linfoma sistémico y del SNC en todos los sujetos. Además, 4 de 6 sujetos con linfoma secundario del SNC en el momento del tratamiento inicial respondieron, 2 tenían una respuesta en curso en el momento del último análisis el día 270 y el día 545 de la administración de linfocitos T-CAR, respectivamente.

Ejemplo 10 Comparación de células que expresan CAR anti-CD19 versus terapia estándar de atención (SOC) en sujetos de alto riesgo, elegibles para trasplante con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento

Las composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas que contienen linfocitos T CD4+ y CD8+ autólogos que expresan un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19, empleadas en los estudios descritos en los Ejemplos 1, 3 y 6 anteriores, se administran a sujetos con linfoma no Hodgkin recurrente y resistente a tratamiento en los que habían fracasado 2 líneas de terapia anteriores. Los sujetos elegibles para el tratamiento incluyen sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) de linfocitos B agresivo (linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), no especificado de otra manera [LNH indolente de novo o transformado], linfoma de doble/triple impacto, linfoma mediastínico primario de linfocitos B grandes, linfoma de linfocitos B grandes rico en linfocitos T/histiocitos, o linfoma folicular grado 3B) y son recurrentes y resistentes a tratamiento (R/R) dentro de los 12 meses posteriores a lograr una respuesta completa (RC) después de la terapia de primera línea con un anticuerpo CD20 y una antraciclina. Los criterios de exclusión incluyen la no elegibilidad para el autotrasplante de células madre (TCMA), trasplante de células madre alogénico planificado, terapia génica anterior o dirigida a CD19, o infección activa.

Los sujetos se asignan a dos grupos diferentes. El grupo 1 recibe 3 ciclos de una terapia de estándar de cuidado (SOC). El SOC para sujetos elegibles para trasplante con LDLBG recurrente/resistente a tratamiento incluye regímenes basados en platino (p. ej., rituximab, dexametasona, citarabina (AraC) y cisplatino (R-DHAP), rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido (R-ICE), o rituximab, gemcitabina, dexametasona y cisplatino (R-GDP)), seguido de carmustina, etopósido, citarabina, y quimioterapia en dosis altas de melfalán (BEAM) y trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) en sujetos que responden. El grupo 2 se somete a reducción de linfocitos con fludarabina/ciclofosfamida seguida de una infusión de linfocitos T CAR+ anti-CD19 a una dosis objetivo de 100×10^6 linfocitos T CAR+ CD8+ y CD4+. Durante la fabricación de los linfocitos T CAR+, los sujetos pueden recibir un régimen de terapia SOC.

Ejemplo 11 Análisis de perfiles de expresión génica y respuesta clínica de biopsia previa al tratamiento

Sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) agresivo recurrente o resistente a tratamiento (R/R) a los que se les administraron composiciones terapéuticas de linfocitos T modificadas por ingeniería genética que contenían linfocitos T CAR anti-CD 19, generalmente como se describe en los Ejemplos 1, 3 y 6 anteriores, se evaluaron para determinar los perfiles de expresión génica en biopsias de tumores previas al tratamiento.

Después de la administración de la composición de linfocitos T CAR, los sujetos fueron monitoreados para determinar la respuesta clínica, incluso 3 meses después de la administración, y la respuesta a la composición de linfocitos T CAR se determinó evaluando si el sujeto tenía progresión de la enfermedad (PE) o respuesta completa (RC).

Se recogieron biopsias de tumores de 50 sujetos con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) antes de la administración de la quimioterapia de reducción de linfocitos y el día 11 después de la administración de linfocitos T CAR, y se analizaron mediante secuenciación de ARN (RNA-seq) para determinar la expresión génica en las muestras de ADN complementario (ADNc) preparadas a partir del ARN aislado de las biopsias de tumores. Se correlacionaron los niveles de expresión génica determinados mediante RNA-seq de las biopsias de tumores previas al tratamiento *post facto* a la respuesta después de la administración de la composición terapéutica autóloga de linfocitos T CAR.

La **FIG. 42** muestra perfiles de expresión génica diferencial en biopsias de tumores previas al tratamiento en sujetos que muestran RC o PE a los 3 meses después del tratamiento. Configurar un corte de Log_2 de múltiplo de variación superior a 0,6 o inferior a -0,6 y una tasa de descubrimiento falso (FDR) inferior o igual al 10 % reveló 360 genes que estaban altamente expresados en biopsias previas al tratamiento de sujetos que mostraban RC a los 3 meses después del tratamiento (n = 16) y 380 genes que estaban altamente expresados en biopsias previas al tratamiento de sujetos con PE a los 3 meses posteriores al tratamiento (n = 29). De los genes expresados de manera diferencial, la expresión de genes asociados a los linfocitos T fue mayor en las biopsias previas al tratamiento de sujetos que exhibieron RC a los 3 meses después del tratamiento. La expresión de EZH2, un gen que codifica el potenciador de la histona lisina metiltransferasa del homólogo 2 de zeste y genes que son dianas de EZH2 fue mayor en las biopsias previas al tratamiento para los sujetos que mostraron PE a los 3 meses después del tratamiento.

Como se muestra en la **FIG. 43,** un conjunto de genes identificado como genes que se expresaron a un nivel más alto en LDLBG en comparación con LF (denominado conjunto de genes "FL_DLBCL_DN"; a partir de un análisis de expresión genética diferencial en 75 muestras de líneas celulares de LDLBG disponibles y 75 muestras de líneas celulares de LF disponibles como se describe en el Ejemplo 4 a continuación), también se encontró que estaba altamente enriquecido en genes asociados a biopsias de sujetos que presentaban PE a los 3 meses después del tratamiento.

Estos resultados respaldan que los genes expresadosen un nivel más alto en LDLBG en comparación con LF y los genes diana EZH2, se enriquecieron en muestras de biopsia previas al tratamiento entre genes asociados a la PE a los 3 meses en sujetos después de la administración de linfocitos T-CAR.

Ejemplo 12 Análisis de expresión génica de linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) frente a linfoma folicular (LF)

RNA-Seq para la expresión génica se llevó a cabo en muestras de ADN complementario (ADNc) preparadas a partir de ARN aislado de aproximadamente 75 muestras de líneas celulares disponibles de linfoma folicular (LF) y aproximadamente 75 de linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), descritas anteriormente en el Ejemplo 11. Las líneas celulares analizadas incluyeron subtipos de LDLBG tanto de linfocitos B del centro germinal (GCB) como de linfocitos B activados (ABC). Como se muestra en la **FIG. 44,** se observó expresión genética diferencial en muestras de tumores LDLBG y LF con diferentes conjuntos de genes elevados en las líneas celulares LDLBG y LF. Entre los genes que exhibieron expresión diferencial entre las líneas celulares LF y LDLBG se encuentran EZH2 (**FIG. 45A;** que codifica el potenciador de histona lisina metiltransferasa del homólogo 2 de zeste) y CD3E (**FIG. 45B;** que codifica la molécula CD3e, épsilon en el complejo CD3-TCR). Como se muestra, los tumores de LF mostraron niveles de expresión más bajos de EZH2 y niveles de expresión más altos de CD3E en comparación con las líneas celulares LDLBG.

Los perfiles de expresión génica por RNA-Seq en biopsias de tumores previas al tratamiento, de sujetos descritos en el Ejemplo 11 a quienes luego se les administró una composición terapéutica de linfocitos T anti-CD 19 como se describe, fueron analizados para determinar la expresión de genes del estudio descrito en **FIG. 44** que se encontró que estaban elevados en LDLBG (denominado "conjunto de genes LDLBG") versus en LF (denominado "conjunto de genes LF"). Se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento de conjunto de genes de muestra única (ssGSEA) para calcular puntuaciones de enriquecimiento separadas para cada emparejamiento de una muestra y el conjunto de genes respectivo. Como se muestra en la **FIG. 46A,** los sujetos que presentaron RC en el estudio descrito en el Ejemplo 11 tuvieron una puntuación ssGSEA más baja para el conjunto de genes LDLBG en comparación con los sujetos que presentaron PE. Por el contrario, como se muestra en la **FIG. 46B,** los sujetos que presentaron RC en el estudio descrito en el Ejemplo 11 tuvieron una puntuación ssGSEA más alta para el conjunto de genes LF en comparación con los sujetos que presentaron PE.

Estos datos demuestran que el perfil de expresión génica de sujetos con LDLBG y LF es diferente. Estos datos son consistentes con una observación de que los sujetos con LF o los sujetos con una mayor expresión de genes que se encuentran elevados en los sujetos con LF en comparación con los sujetos con LDLBG pueden ser menos resistentes a la infiltración de linfocitos T en el entorno del tumor que los sujetos con LDLBG o los sujetos que expresan genes que se encuentra que están elevados en LDLBG en comparación con LF.

Ejemplo 13 Evaluación de la seguridad y eficacia en sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento después de la administración de células que expresan CAR anti-CD19

Se administraron composiciones de linfocitos T CAR^+ terapéuticas que contenían linfocitos T CD4+ y CD8+ autólogos que expresaban un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19 a sujetos con linfoma no Hodgkin recurrente y resistente a tratamiento, incluido el sujeto con linfoma de linfocitos B grandes (LLBG) recurrente y resistente a tratamiento, que había fracasado sustancialmente en 2 líneas de terapia anteriores en el estudio clínico como se describe en los Ejemplos 1, 3 y 6.

A. Sujetos y Tratamiento

Los datos presentados en este punto de tiempo representan los resultados de 268 sujetos que recibieron las composiciones terapéuticas de linfocitos T CAR+, a menos que se especifique lo contrario como 269 sujetos. Este grupo de sujetos incluyó el subconjunto de sujetos en los que los resultados se representan en los Ejemplos 1, 3 y 6.

Los sujetos del linfoma de linfocitos B grandes (cohorte LLBG; anteriormente también denominada cohorte LDLBG) incluyeron sujetos de 18 años o más con LDLBG recurrente/resistente a tratamiento (R/R) no especificado de otra manera (NOS; incluso transformado a partir de cualquier linfoma indolente), linfoma de linfocitos B de alto grado (LLBAG) con reordenamientos de MYC y BCL2 y/o BCL6 (Swerdlow SH et al. Blood. 2016;127:2375-90), linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) o linfoma folicular grado 3B (LF3B). Los sujetos tenían enfermedad R/R después de 2 o más líneas de terapia y ECOG PS 0-2. Los sujetos con citopenias de grado 3/4, disfunción orgánica

leve a moderada y linfoma secundario del SNC fueron elegibles. Se permitió la terapia de transición, pero los sujetos debían tener una enfermedad positiva para TEP antes de la reducción de linfocitos (LD) con fludarabina y ciclofosfamida. Los sujetos que lograron cáncer estable (SD) como la mejor respuesta después de una primera infusión de linfocitos T modificados por ingeniería genética que expresan el mismo CAR anti-CD 19 descrito en este documento, fueron elegibles para recibir una segunda infusión de las células modificadas por ingeniería genética. Los sujetos deben haber recibido previamente quimioinmunoterapia que contenga anti-CD20 (p. ej., antraciclina y rituximab (u otro agente dirigido a CD20) y haber recaído posteriormente, y podrían haber recibido un TCMH autólogo o alogénico previamente. Los sujetos con disfunción renal moderada (aclaramiento de creatinina <60 ml/min) y cardíaca (fracción de eyección del ventrículo izquierdo <50 %), se incluyeron un recuento absoluto bajo de linfocitos (no se requiere un recuento mínimo) y afectación secundaria del SNC. No hubo un umbral inferior para RAL, RAN, plaquetas o hemoglobina. Se evaluó el seguimiento a largo plazo de los resultados en sujetos de la cohorte de LDLBG.

Para la cohorte de linfoma de células del manto (LCM): LCM (el diagnóstico debe haber sido confirmado con expresión de ciclina D1 o evidencia de t(11;14) por citogenética, hibridación fluorescente in situ [FISH] o reacción en cadena de la polimerasa [PCR]) con enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de al menos 1 línea previa de terapia para LCM.

Otros criterios incluyeron enfermedad positiva para tomografía por emisión de positrones (TEP) según "Recommendations for Initial Evaluation, Staging, and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification"(Cheson BD et al. J Clin Oncol. 2014. 32:3059-68); tejido de biopsia tumoral archivado disponible de la última recaída y el correspondiente informe patológico disponible o, si al menos 1 sitio afectado por el tumor se consideró accesible en el momento de la selección, dispuesto a someterse a una biopsia previa al tratamiento (por escisión cuando sea posible) para confirmar la enfermedad. Si el sujeto nunca ha conseguido una respuesta completa (RC), era aceptable una muestra de la biopsia más reciente; Estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de 0 o 1 (tenga en cuenta que el estado ECOG de 2 también se permitió hasta la Enmienda 5 del Protocolo); función orgánica adecuada, se define como: evaluado por el investigador como haber tenido una función adecuada de la médula ósea para recibir quimioterapia con reducción de linfocitos (LDC); creatinina sérica ≤ 1,5 × límite superior ajustado por edad de la normalidad (LSN, por sus siglas en inglés) o aclaramiento de creatinina calculado (CrCl; Cockcroft y Gault) >30 ml/min/1,73 m^2; alanina aminotransferasa (ALT) ≤ 5 × LSN y bilirrubina total < 2,0 mg/dl (o < 3,0 mg/dl para sujetos con síndrome de Gilbert o infiltración linfomatosa del hígado); función pulmonar adecuada, definida como Criterio de Terminología Común del Instituto Nacional contra el Cáncer (NCI) para Acontecimientos Adversos (CTCAE) disnea grado ≤1 y saturación de oxígeno (SaOz) ≥92 % en airea ambiente; función cardiaca adecuada, definida como fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) ≥ 40 % evaluada por ecocardiograma o exploración de adquisición dependiente de captación múltiple (MUGA) realizada dentro de 1 mes de la determinación de elegibilidad; acceso vascular adecuado para el procedimiento de leucocitaféresis (ya sea vía periférica o vía colocada quirúrgicamente). Los sujetos que recibieron terapia previa dirigida a CD19 deben haber tenido un linfoma positivo para CD19 confirmado mediante una biopsia desde que completaron la terapia dirigida a CD19 anterior.

Los sujetos fueron tratados con las composiciones terapéuticas de linfocitos T CAR anti-CD19 como se describe en el Ejemplo 1. En particular, la construcción de linfocitos T CAR+ anti-CD19 incorporó un dominio coestimulador 4-1BB. Para todos los sujetos tratados, las composiciones terapéuticas de linfocitos T se fabricaron como composiciones CD4+ y CD8+ separadas en las que los subconjuntos de linfocitos T CD8+ y CD4+ de cada paciente se purificaron y transdujeron con el CAR anti-CD 19, se expandieron y se crioconservaron por separado, en números objetivo individuales de linfocitos T CAR+ CD8+ y CD4+. La fabricación por separado de las composiciones de linfocitos T CAR+ CD4 y CD8, incluyendo transducción separada para expresar el CAR anti-CD 19 y expansión por separado in vitro, permitió la administración de los linfocitos T-CAR modificados por ingeniería genética CD4+ y CD8+ en dosis objetivo aproximadamente iguales (aproximadamente 1:1). Por consiguiente, se observó una baja variabilidad en las dosis administradas de linfocitos T totales y CD8+ CAR+.

Los sujetos fueron tratados con fludarabina intravenosa (30 mg/m^2/día durante 3 días) más ciclofosfamida (300 mg/m^2/día durante 3 días) antes del tratamiento con linfocitos T CAR. La quimioterapia con reducción de linfocitos se completó entre 2 y 7 días antes de la administración de linfocitos T CAR. A lo largo del estudio, la administración de fludarabina debía basarse en el prospecto de fludarabina; se ajustaron las dosis de fludarabina en pacientes con insuficiencia renal, de acuerdo con el etiquetado de fludarabina. Las dosis de quimioterapia con reducción de linfocitos se describen en la **Tabla E32.1.**

Tabla E32.1. Dosis reducidas, retrasadas o eliminadas de quimioterapia con reducción de linfocitos [a]	
	Sujetos tratados con LLBG[a] N=268
Sujetos con	
Dosis reducida de fludarabina o n (%) ciclofosfamida,[b]	18 (7)

(continuación)

Tabla E32.1. Dosis reducidas, retrasadas o eliminadas de quimioterapia con reducción de linfocitos [a]	
	Sujetos tratados con LLBG[a] N=268
Dosis eliminada de fludarabina o n (%) ciclofosfamida,[3]	2 (0,7)
LLBG, linfoma de linfocitos B grandes. [a]Los sujetos podrían incluirse en >1 categoría. [b]Recibió al menos una dosis reducida de fludarabina o ciclofosfamida pero no omitió ninguna dosis. [c]Omitió al menos una dosis de fludarabina o ciclofosfamida. [d]Recibió al menos una dosis retrasada de fludarabina o ciclofosfamida.	

Se permitió la terapia de transición para controlar la enfermedad y se administró según la decisión del investigador después de la leucocitaféresis y antes de la quimioterapia con reducción de linfocitos. Las terapias de transición se describen en la **Tabla E32.2.**

Tabla E32.2. Terapia de transición anticancerígena.	
	Pacientes tratados con LDLBG N=268
Terapia de transición recibida, n (%)[a]	
Sí	159 (59)
No	109 (41)
Tipo de tratamiento, n (%)[b]	
Sólo terapia sistémica	140 (88)
Sólo radioterapia	6 (4)
Ambos	**13 (8)**
Terapias más frecuentemente utilizadas (en ≥3 %), n (%)[b]	
Rituximab-GEMOX	24 (15)
Dexametasona	18 (11)
XRT	17 (11)
Rituximab	14 (9)
Prednisona	12 (8)
BR	10 (6)
Lenalidomida	9 (6)
GEMOX	7 (4)
Brentuximab vedotina	5 (3)
Ibrutinib	5 (3)
Bendamustina	4 (3)
Gemcitabina + rituximab	4 (3)
BR, bendamustina más rituximab; GEMOX, gemcitabina más oxaliplatino; LLBG, linfoma de linfocitos B grandes; XRT, radioterapia. El conjunto tratado con LLBG incluye todos los pacientes que recibieron al menos una dosis de composiciones de linfocitos T CAR+. [a]Terapia puente que se inició después del consentimiento y antes de la quimioterapia con reducción de linfocitos. [b]El denominador es el número de pacientes que recibieron terapia de transición.	

B. Características de referencia

En este punto de tiempo para el análisis, un total de 342 sujetos se habían sometido a leucocitaféresis, de los cuales 268 recibieron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ (o en algunos casos, 269 sujetos como se indica), 24 recibieron un producto no conforme (es decir, el componente CD8+ o CD4+ no cumplió con los criterios de liberación), por todos los niveles de dosis, 2 no tenían composiciones disponibles y 48 no recibieron linfocitos T CAR principalmente debido a muerte o complicaciones del linfoma antes de la infusión (33 habían muerto y no recibieron linfocitos T que expresaban CAR). En un proceso de fabricación a modo de ejemplo para generar células que expresan CAR, la mediana de tiempo desde la leucocitaféresis hasta los criterios de recogida y la disponibilidad del producto fue de 24 días.

Las características del paciente se muestran en **Tabla E32.3** (n=268) **y Tabla E32.4** (n=269). La mediana de edad fue 63 (intervalo, 18-86) años, incluyendo subpoblaciones de mayor edad (el 41 % tenía ≥65 años y el 10% tenía ≥75 años); el 65 % de los sujetos eran hombres. Los sujetos tenían comorbilidades moderadas (el 19 % y el 5 % de los pacientes tenían insuficiencia renal y cardíaca, respectivamente). Los sujetos recibieron un tratamiento previo intenso (la mediana del número de líneas de terapia anteriores fue de 3) y tenían una enfermedad agresiva: el 26 % tenía ≥4 líneas anteriores de terapia sistémica (mediana de 3; intervalo, 1-8); el 34 % se sometió a un TCMH

autólogo previo y el 3 % a un TCMH alogénico previo; el 67 % eran resistentes a quimioterapia (resistentes a quimioterapia a la última línea de terapia); el 44 % nunca había conseguido la RC. De todos los sujetos, 255 fueron evaluables para respuesta. Los sujetos tenían niveles de creatinina sérica de ≤1,5 x LSN ajustado por edad o una tasa de aclaramiento de creatinina (CrCl) >30 ml/min/1,73 m^2. En el cribado, el 58 % de los sujetos tenía ECOG PS 1; el 59 % requirió terapia de transición; el 22 % tenía LDH ≥500 U/l y el 28 % tenía SPD ≥50 cm^2 antes de la reducción de linfocitos.

Tabla E32.3 Características del paciente al inicio

Característica	**Pacientes tratados con linfocitos T CAR⁺ N=268**
Hombres - n.º (%)	174 (65)
Edad, años	
Mediana (intervalo)	63 (18-86)
≥65 - n.º (%)	111 (41)
≥75 - n.º (%)	27 (10)
Subtipos de LLBG - n.º (%)	
LDLBG NOS	137 (51)
LDLBG transformado a partir de LF	60 (22)
LDLBG transformado a partir de otros linfomas indolentes	18 (7)
LLBAG†	36 (13)
LLBMP	15 (6)
LF grado 3B	2 (1)
ECOG PS en detección - n.º (%)	
0	109 (41)
1	155 (58)
2	4 (1)
SPD anterior a LDC ≥50 cm^2 - n.º (%)‡	72 (28)
PCR anterior a LDC, mg/l - mediana (intervalo)	27,90 (0,25-2158,00)
Aclaramiento de creatinina anterior a LDC <60 ml/min - n.º (%)§	51 (19)
FEVI <50 % - n.º (%)‖	13 (5)
Líneas de terapia anteriores	
Mediana (intervalo)	3,0 (1-8)
≥4 - n.º (%)	70 (26)
Resistente a quimioterapia - n.º (%)	180 (67)
TCMH previo recibido - n.º (%)	94 (35)
TCMH autólogo	90 (34)
TCMH alogénico	9 (3)
Nunca logro RC con terapia previa - n.º (%)	119 (44)
Terapia de transición recibida - n.º (%)	159 (59)
Linfoma secundario del SNC - n.º (%)	7 (3)

* SNC denota sistema nervioso central, RC respuesta completa, PCR proteína C reactiva, LDLBG NOS linfoma difuso de linfocitos B grandes no especificado de otra manera, ECOG PS Estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este, LF linfoma folicular, LLBAG linfoma de linfocitos B de alto grado con reordenamientos de *MYC* y *BCL2* y/o *BCL6* con histología de LDLBG, TCMH trasplante de células madre hematopoyéticas, LLBG linfoma de linfocitos B grandes, LDC quimioterapia con reducción de linfocitos, FEVI fracción de eyección del ventrículo izquierdo, LLBMP linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario y SPD suma del diámetro del producto.
†Pacientes con LDLBG transformado a partir de linfomas indolentes con reordenamientos de *MFC* y *BCL2* o *BCL6* no se incluyeron como LLBAG.
‡No todos los pacientes fueron evaluables para SPD (n = 256).
§El aclaramiento de creatinina tenía que ser ≥40 ml/min según los criterios de elegibilidad.
‖La FEVI tenía que ser ≥40 % según los criterios de elegibilidad

Tabla E32.4 Características iniciales

Característica	**Todos los pacientes con LLBG, N=269**
Edad, mediana (intervalo)	63 (18-86)
≥65 años, n (%)	112 (42)
≥75 años, n (%)	27 (10)
subtipos de LNH, n (%)	
LDLBG NOS	137 (51)
Transformado a partir de LF / otros linfomas indolentes	60 (22) / 18 (7)

(continuación)

Tabla E32.4 Características iniciales	
Característica	**Todos los pacientes con LLBG, N=269**
LLBGA[a] / LLBMP / LF3B	36 (13) / 15 (6) / 3 (1)
Linfoma secundario del SNC, n (%)	7 (3)
ECOG PS 0-1 / 2 en la selección, n (%)	265 (99) /4 (1)
SPD previa a LDC ≥50 cm^2, n (%)[b]	73 (28)
Aclaramiento de creatinina >30 a <60 ml/min, n (%)	51 (19)
FEVI ≥40 % a <50 %, n (%)	13 (5)
Terapias anteriores, mediana (intervalo)	3 (1-8)
≥4 terapias anteriores, n (%)	71 (26)
Recibió un TCMH previo, n (%)	94 (35)
TCMH autólogo/alogénico	90 (33) / 9 (3)
Resistente a quimioterapia, n (%)[c]	181 (67)
Nunca consiguió RC con terapia anterior, n (%)	119 (44)
Recibió terapia de transición, n (%)	159 (59)
[a] Sujetos con LDLBG transformados a partir de linfomas indolentes con reordenamientos *MIC* y *BCL2* o *BCL6* no se incluyen como LLBAG. [b]N=256. [c]El estado era resistente a quimioterapia si el paciente alcanzó CE o PE hasta el último régimen que contenía quimioterapia o recayó <12 meses después del auto-TCMH; de lo contrario, el estado era sensible a la quimioterapia. NOS, no especificado de otra manera; LF(3B), linfoma folicular (grado 3B); LLBAG, linfoma de linfocitos B de alto grado; LDC, quimioterapia con reducción de linfocitos; LLBMP, linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario; SPD, suma del producto del diámetro	

C. Evaluación de dosis y resultados Los sujetos habían recibido DL1 de 50 × 10^6 (n=51), DL2 de 100×10^6 (n=176) o DL3 de 150 × 10^6 (n=41). Veinticinco sujetos (25) fueron tratados en el entorno ambulatorio. Los datos de este ejemplo se combinan de todos los niveles de dosis.

Se probaron tres esquemas de dosis única. El nivel de dosis 1 se probó como una dosis única administrada el día 1 y como un esquema de dos dosis, con una segunda dosis de linfocitos T CAR administrada el día 15 (Tabla E33.1). Se ampliaron todos los niveles de dosis y se eligió DL2 como DL objetivo para la confirmación de la dosis. La eficacia y seguridad en cohortes de búsqueda de dosis se analizaron utilizando el método bayesiano (Quintana M, et al. Contemp Clin Trials 2016;48:153-65) para identificar un régimen recomendado, que se evaluó más a fondo en la confirmación de dosis. El estudio cumplió con todos los criterios de valoración de respuesta primarios y secundarios. Los criterios de valoración principales fueron los acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) y la tasa de respuesta global (TRO). Los criterios de valoración secundarios incluían tasa de RC, duración de la respuesta (DR), SSP, relación de SSP y SVG. Los AADT, incluidos los acontecimientos neurológicos (AN) identificados por el investigador relacionados con las composiciones de linfocitos T CAR^+, se calificaron utilizando los criterios CTCAE (por ejemplo, v4.03.20); SLC se calificó según los criterios de Lee (2014); y parámetros relacionados con la cinética celular, la aplasia de linfocitos B y la inmunogenicidad se evaluaron como se describe a continuación. La TRO se evaluó mediante una revisión independiente utilizando los criterios de Lugano. Los datos de todos los sujetos tratados con linfocitos T CAR^+ en la cohorte de LLBG se analizaron en todas las DL. Un diagrama del régimen de tratamiento se describe en la **FIG. 48.**

Tabla E33.1 Esquemas de dosis				
		Dosis objetivo de linfocitos T CAR+		
Nivel de dosis	**Día de estudio de administración**	**Total**	**CD8+**	**CD4+**
DL1	Día 1	50 × 10^6	25 × 10^6	25 × 10^6
DL1D	Día 1 y día 15	50 × 10^6 y 50 × 10^6	25 × 10^6 y 25 × 10^6	25 × 10^6 y 25 × 10^6
DL2	Día 1	100 × 10^6	50 × 10^6	50 × 10^6
DL3	Día 1	150 × 10^6	75 × 10^6	75 × 10^6
DL1, nivel de dosis 1 (dosis única); DL1D, nivel de dosis 1 (2 dosis); DL2, nivel de dosis 2 (dosis única); DL3, nivel de dosis 3 (dosis única).				

Las toxicidades limitantes de la dosis (TLD) y los acontecimientos adversos (AA) se definieron de la siguiente manera: Cualquier AA de grado 4 o 5 que surja del tratamiento relacionado con linfocitos T CAR+; cualquier AA de grado 3 que surja del tratamiento relacionado con linfocitos T CAR+ que no se resolvió a grado ≤2 en el intervalo de 7 días; cualesquier crisis epiléptica de grado 3 que surja del tratamiento que no se resolvió a grado ≤ 2 en el intervalo de 3 días; cualquier grado ≥ 3 de toxicidad autoinmunitaria que surja del tratamiento, independientemente de la atribución (excluyendo la aplasia de linfocitos B). En el esquema de 2 dosis, incapacidad para recibir la segunda dosis de linfocitos T CAR+ debido a la toxicidad relacionada con los linfocitos T CAR+. Los siguientes acontecimientos esperados no se consideraron TLD: Valores de laboratorio de grado 3 o 4 que el investigador no consideró clínicamente significativos, incluso si cumplieron con los criterios de notificación de AA; toxicidades por

infusión de grado 4 que eran reversibles a grado ≤ 2 en 8 horas; fiebre de grado 3 o 4 o neutropenia febril durante ≤ 2 semanas; transaminasas de grado 3 durante ≤ 2 semanas; dolor óseo de grado 3 debido a la expansión de linfocitos T en los compartimentos de la médula durante ≤ 2 semanas; síndrome de lisis tumoral (TLS) de grado 3 o 4 durante ≤2 semanas; hipotensión de grado 3 o 4 (sin otros síntomas de síndrome de liberación de citocinas [SLC]) que requiere un único vasopresor para soporte que se resuelve a grado < 3 en ≤ 72 horas; SLC de grado 3 o 4 con hipotensión sola que requiere un único vasopresor para soporte (que no requiere intubación) que se resuelve a grado < 3 en ≤ 72 horas; encefalopatía de grado 3 o 4 durante ≤ 7 días y se resuelve al valor basal en ≤ 28 días desde el comienzo del acontecimiento de grado ≥ 3; escalofríos de grado 3; linfopenia de grado 3 o 4; leucopenia de grado 3 o 4; aplasia de linfocitos B de grado 3 o 4 e hipogammaglobulinemia.

Los acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) se definieron como acontecimientos adversos que comenzaron en cualquier momento desde el inicio de la administración de linfocitos T CAR+ hasta los 90 días posteriores a la administración final de linfocitos T CAR+. Cualquier acontecimiento adverso que ocurriera después del inicio de otro tratamiento contra el cáncer o después del retratamiento con linfocitos T CAR+ no se consideró un AADT de linfocitos T CAR+. Los AADT, las alteraciones de laboratorio y los acontecimientos neurológicos (definidos como acontecimientos neurológicos evaluados por el investigador relacionados con los linfocitos T CAR+) se clasificaron utilizando los Criterios de terminología común para acontecimientos adversos del Instituto Nacional del Cáncer v4.03 (National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.03.2009. 23 de octubre, 2019), SLC se calificó según los criterios de Lee (Lee et al. Blood. 2014; 188-95).

La duración de la respuesta se definió como el tiempo desde la primera respuesta completa o parcial hasta la progresión de la enfermedad o la muerte. La supervivencia sin progresión se definió como el tiempo desde la primera infusión de linfocitos T CAR hasta la progresión de la enfermedad o la muerte. La supervivencia global se definió como el tiempo desde la primera infusión de linfocitos T CAR hasta la fecha de la muerte.

D. Resultados de seguridad

Entre 139 sujetos tratados en búsqueda de dosis (n=59) y expansión de dosis (n=80), 9 (6 %) experimentaron TLD (Tabla E33.2). No se identificó ninguna dosis máxima tolerada. DL2 (100×10^6 linfocitos T CAR+) fue la dosis evaluada en la confirmación de dosis. No se observó una relación clara entre la toxicidad relacionada con la dosis y la eficacia en todas las DL, excepto por una tasa elevada de SLC de grado 1 y 2 en DL3 **(Tabla E33.2).** No se produjeron TLD en DL1D (nivel de dosis 1, dosis doble). Todos los acontecimientos de encefalopatía de grado 3 se resolvieron. El acontecimiento de encefalopatía de grado 4 no se resolvió en el momento de la muerte debido a la progresión de la enfermedad. Ambos acontecimientos de trombocitopenia de grado 4 se recuperaron/resolvieron. Se combinaron los datos de todos los sujetos.

Tabla E33.2 Toxicidades limitantes de la dosis durante la búsqueda de dosis y expansión de dosis

		TLD	
		Acontecimiento	**Peor grado**
Búsqueda de dosis (N=59)			
DL1			
	Paciente 1	Encefalopatía	4
	Paciente 2	Convulsión	4
	Paciente 3	Lesión renal aguda	4
DL2			
	Paciente 4	Trombocitopenia	4
DL3			
	Paciente 5	Encefalopatía	3
Expansión de dosis (N=80)			
L1			
	Paciente 6	Encefalopatía	3
		SLC	4
		Insuficiencia renal	4
	Paciente 7	Daño alveolar difuso	5
	Paciente 8	Trombocitopenia	4
		Cambios del estado mental	3
DL2			
	Paciente 9	Encefalopatía	3

SLC, síndrome de liberación de citocinas; DL1, nivel de dosis 1 (dosis única); DL2, nivel de dosis 2 (dosis única); TLD, toxicidad limitante de la dosis.

Los resultados de los acontecimientos adversos de todos los sujetos tratados en el punto de tiempo se exponen en la **Tabla E33.3.**

En el cribado, el 58 % de los sujetos tenía ECOG PS 1; el 59 % requirió terapia de transición; el 22 % tenía LDH ≥500 U/l y el 28 % tenía SPD ≥50 cm^2 antes de LD. Entre 268 sujetos que recibieron composiciones de linfocitos T CAR+ evaluadas en el análisis de seguridad, los acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) más frecuentes fueron neutropenia (63 %), anemia (48 %), fatiga (44 %), SLC (42 %) y náuseas (33 %). La evaluación de seguridad mostró que el 79 % de los sujetos tenían AADT de grado ≥3, principalmente citopenias (neutropenia, 60 %; anemia, 37 %; trombocitopenia, 27 %). SLC o AN ocurrieron en el 47 % de los sujetos. El SLC de cualquier grado se produjo en el 42 % de los sujetos con una mediana de aparición de 5 días; sólo el 2 % tenía SLC grado ≥3. Los AN ocurrieron en el 30 % de los sujetos (grado ≥3, 10 %) con una mediana de aparición de 9 días. El 19 % de los sujetos recibió tocilizumab y el 21 % recibió corticosteroides para el SLC y/o los AN. Siete sujetos (3 %) tuvieron AADT de grado 5, incluyendo una TLD de grado 5, de los cuales 4 se atribuyeron a la composición de linfocitos T CAR+ y LDC, como se muestra en la **Tabla E33.3.**

Siete sujetos (3 %) tuvieron AADT de grado 5, incluido una TLD de grado 5; cuatro AADT de grado 5 que ocurrieron estaban relacionados con composiciones de linfocitos T CAR^+ y la terapia con reducción de linfocitos (LD) (daño alveolar difuso, hemorragia pulmonar, síndrome de disfunción orgánica múltiple, miocardiopatía). Tres AADT de grado 5 no estaban relacionados con composiciones de linfocitos T CAR^+: leucoencefalopatía por fludarabina, choque séptico y leucoencefalopatía multifocal progresiva. Se informó citopenia prolongada de grado ≥3 (según la evaluación de laboratorio el día 29) en el 37 % de los sujetos. La seguridad fue similar entre los grupos de edad, histologías y sujetos con disfunción orgánica

La **Tabla E33A-1** muestra los acontecimientos adversos durante el tratamiento para el grupo de 268 sujetos y la **Tabla E33A-2** muestra los acontecimientos adversos durante el tratamiento en todos los subgrupos de sujetos en otro punto de tiempo del mismo estudio (n = 269). La **Tabla E33B-1** (n=268) y la **Tabla E33B-2** (n=269) muestran otros acontecimientos adversos de especial interés. La hipogammaglobulinemia de laboratorio (IgG <500 mg/dl) estuvo presente en el 49 % (127 de 258) al inicio del estudio, el 58 % (136 de 236 sujetos) el día de estudio 29 y el 61 % (8 de 112 sujetos) el día de estudio 365.

La **Tabla E33B-3** muestra incidencia y tratamiento o SLC y AN. SLC y AN fueron reversibles, 1 sujeto tenía AN no resuelto (temblor de grado 1) en el punto de tiempo del análisis y 8 sujetos tenían SLC/AN en curso en el momento de la muerte por otras razones. El tratamiento para SLC y AN se describe en **FIG. 57,** un sujeto recibió anakinra y siltuximab para SLC y un sujeto recibió siltuximab para AN. La **Tabla E33C** muestra síntomas emergentes del tratamiento del síndrome de liberación de citocinas (SLC) que se produjeron en ≥2 % de los pacientes. La **Tabla E33D** muestra acontecimientos neurológicos emergentes del tratamiento por grupo que ocurrieron en ≥5 pacientes.

Las **Tablas E33E-1** y **Tabla E33E-2** muestran una comparación de acontecimientos adversos por nivel de dosis. La **Tabla E33F** muestra una comparación de seguridad entre subgrupos de pacientes. La **Tabla E33G** muestra los resultados de seguridad de los pacientes ambulatorios, pacientes retratados y aquellos que recibieron productos no conformes.

Menos de la mitad (47 %) de todos los pacientes desarrollaron SLC y/o AN **(Tablas E33B-E33D),** con una mediana de aparición de 5 y 9 días, respectivamente. El cuarenta y dos por ciento de los pacientes tenían SLC de cualquier grado. El SLC de grado 3 o 4 fue raro, ocurriendo en sólo el 2 % de los pacientes. El SLC se trató con tocilizumab y/o corticosteroides en el 20 % de los pacientes; el 10 % recibió solo tocilizumab. Se observaron AN de cualquier grado en el 30 % de los pacientes y generalmente ocurrieron durante o después de SLC (73 %); el 10 % tenía AN de grado 3 o 4. Ningún paciente tenía SLC o AN de grado 5. Otros AADT de especial interés incluyeron citopenias prolongadas (37 % de los pacientes), hipogammaglobulinemia (14 %) e infecciones de grado ≥3 (12 %). Dieciocho pacientes (7 %) ingresaron en la unidad de cuidados intensivos durante el período de hospitalización inicial después de la infusión de linfocitos T CAR+.

Tabla E33.3. Acontecimientos Adversos

	Todos los sujetos tratados N= 268	
TEAE de interés especial	**Cualquier grado**	**Grado ≥3**
SLC, n (%)	113 (42)	6 (2)
Tiempo hasta aparición, mediana (intervalo) de días	5 (1-14)	6,5 (3-12)
AN, n (%)	80 (30)	27 (10)
Tiempo hasta aparición de AN, mediana (intervalo) de días	9 (1-66)	9 (2-44)
Cualquier tocilizumab, n (%)	52 (19)	
Tocilizumab solo, n (%)	18 (7)	
Cualquier corticosteroide, n (%)	56 (21)	
Corticosteroides solo, n (%)	22 (8)	
Tanto tocilizumab como corticosteroides, n (%)	34 (13)	
Infecciones, n (%)	110 (41)	33 (12)

(continuación)

Tabla E33.3. Acontecimientos Adversos		
	Todos los sujetos tratados N= 268	
Citopenia prolongada de grado ≥3, [a] n (%)	-	100 (37)
Síndrome de lisis tumoral, n (%)	2 (1)	2 (1)
[a]Las citopenias prolongadas se definieron como evaluaciones de laboratorio de grado ≥3 en el día 29 del estudio. SLC, síndrome de liberación de citocinas; AN, acontecimientos neurológicos; Los AADT, acontecimientos adversos emergentes del tratamiento.		

Tabla E33A-1. Acontecimientos adversos durante el tratamiento			
	Pacientes tratados con linfocitos T CAR+ N=268		
	AADT de cualquier grado	AADT de Grado 1 o 2	AADT de Grado ≥3
Pacientes con AADT - n.º (%)	266 (99)	54 (20)	212 (79)
Neutropenia	168 (63)	8 (3)	160 (60)
Anemia	128 (48)	28 (10)	100 (37)
Fatiga	119 (44)	115 (43)	4 (1)
Síndrome de liberación de citocinas	113 (42)	107 (40)	6 (2)
Náuseas	89 (33)	85 (32)	4 (1)
Trombocitopenia	84 (31)	12 (4)	72 (27)
Cefalea	80 (30)	77 (29)	3 (1)
Apetito disminuido	76 (28)	69 (26)	7 (3)
Diarrea	71 (26)	70 (26)	1 (<1)
Estreñimiento	62 (23)	62 (23)	0
Mareo	60 (22)	59 (22)	1 (<1)
Hipotensión	59 (22)	51 (19)	8 (3)
Tos	56 (21)	56 (21)	0
Vómitos	56 (21)	55 (21)	1 (<1)
Hipopotasemia	52 (19)	46 (17)	6 (2)
Leucopenia	43 (16)	5 (2)	38 (14)
	AADT de Grado 5		
Pacientes con AADT - n.º (%)	7 (3)		
Daño alveolar difuso‡,§	1 (<1)		
Hemorragia pulmonar&	1 (<1)		
síndrome de disfunción orgánica múltiple &	1 (<1)		
Leucoencefalopatía‖	1 (<1)		
Choque séptico‖	1 (<1)		
Miocardiopatía§	1 (<1)		
Leucoencefalopatía multifocal progresiva‖	1 (<1)		
*LLBG denota linfoma de linfocitos B grandes, LDC quimioterapia con reducción de linfocitos y AADT acontecimientos adversos durante el tratamiento. †En al menos el 15 % de los pacientes. ‡Toxicidad limitante de la dosis. §El investigador lo considera relacionado tanto con las composiciones de linfocitos T CAR+ como con LDC. ‖Se considera relacionado con LDC (choque séptico y leucoencefalopatía) o no relacionado tanto con las composiciones de linfocitos T CAR+ como con LDC (leucoencefalopatía multifocal progresiva).			

Tabla E33A-2. Acontecimientos adversos durante el tratamiento en ≥25 % de los sujetos[a]		
	Todos los pacientes con LLBG, N=269	
	Cualquier grado	Grado ≥3
Cualquier AADT, n (%)	267 (99)	213 (79)
Neutropenia	169 (63)	161 (60)
Anemia	129 (48)	101 (38)
Fatiga	119 (44)	4 (1)
Síndrome de liberación de citocinas	113 (42)	6 (2)
Náuseas	90 (33)	4 (1)
Trombocitopenia	84 (31)	72 (27)
Cefalea	80 (30)	3 (1)
Apetito disminuido	76 (28)	7 (3)

(continuación)

Tabla E33A-2. Acontecimientos adversos durante el tratamiento en ≥25 % de los sujetos[a]		
	Todos los pacientes con LLBG, N=269	
	Cualquier grado	Grado ≥3
Diarrea	71 (26)	1 (<1)

[a]Un AADT se definió como un acontecimiento adverso que comenzó en cualquier momento desde el inicio de la administración de linfocitos T CAR hasta los 90 días posteriores al ciclo final de los linfocitos T CAR. Cualquier AA que ocurriera después del inicio de otro tratamiento contra el cáncer o del retratamiento con linfocitos T CAR no se consideró un AADT de linfocitos T CAR. TLD, toxicidad limitante de la dosis; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.

Tabla E33B-1. Acontecimientos adversos durante el tratamiento de especial interés	
Acontecimiento	**Pacientes tratados con linfocitos T CAR+ N=268**
SLC†	
Cualquier grado - n.º (%)	113 (42)
Grado 3 - n.º (%)	4 (1)
Grado 4 - n.º (%)	2 (1)
Tiempo de aparición (días) - mediana (intervalo)	5 (1-14)
Tiempo hasta la resolución (días) - mediana (intervalo)	5 (1-17)
AN†	
Cualquier grado - n.º (%)	80 (30)
Grado 3 - n.º (%)	23 (9)
Grado 4 - n.º (%)	4 (1)
Tiempo de aparición (días) - mediana (intervalo)	9 (1-66)
Tiempo hasta la resolución (días) - mediana (intervalo)	11 (1-86)
Tocilizumab y/o corticosteroide para SLC‡ - n.º (%)	53 (20)
Tocilizumab solo	27 (10)
Tocilizumab y corticosteroides	21 (8)
Corticosteroides solo	5 (2)
Otros medicamentos para el tratamiento del SLC - n.º (%)	
Anakinra	1 (<1)
Vasopresores	7 (3)
Siltuximab	1 (<1)
Citopenias prolongadas§ - n.º (%)	100 (37)
Infecciones de grado ≥3‖ - n.º (%)	33 (12)
Hipogammaglobulinemia - n.º (%)	37 (14)
Síndrome de lisis tumoral - n.º (%)	2 (1)
Reacciones relacionadas con la infusión: n.º (%)	3 (1)

*SLC denota síndrome de liberación de citocinas, LLBG linfoma de linfocitos B grandes, y AN acontecimientos neurológicos.
†No se produjo SCL o AN de grado 5. El SLC se calificó según los criterios de Lee.[21] Los AN se definieron como AN evaluados por el investigador relacionados con las composiciones de linfocitos T CAR+.
‡Los pacientes con SLC y AN concurrentes pueden haber recibido tocilizumab o corticosteroides para ambos acontecimientos.
§Las citopenias prolongadas incluyeron neutropenia de grado ≥3, trombocitopenia o anemia no resuelta el día 29 del estudio según evaluaciones de laboratorio.
‖Se produjeron infecciones bacterianas de grado ≥3 en 11 (4 %) pacientes; infecciones fúngicas en 2 (0,7 %) pacientes e infecciones víricas en 4 (1,5 %) pacientes

Tabla E33B-2. Otros acontecimientos adversos de especial interés.	
Incidencia	**Todos los sujetos tratados con linfocitos T-CAR N=269**
Citopenias prolongadas de grado ≥3,[a] n (%)	100 (37)
Infecciones de grado ≥3, n (%)	33 (12)
Bacteriana	11 (4)
Vírica	4 (1)
Fúngica	2 (1)
Otros	16 (6)
Hipogammaglobulinemia, n (%)	
Notificación de acontecimientos adversos	37 (14)

(continuación)

Tabla E33B-2. Otros acontecimientos adversos de especial interés.	
Incidencia	**Todos los sujetos tratados con linfocitos T-CAR N=269**
Evaluación de laboratorio	xxx
Síndrome de lisis tumoral, n (%)	2 (1)
Grado 3 o 4	2 (1)
Reacciones relacionadas con la infusión, n (%)	3 (1)
Grado 3 o 4	0
[a]Las citopenias prolongadas incluyeron neutropenia, trombocitopenia o anemia no resuelta el día 29 del estudio según evaluaciones de laboratorio. 55 (20,5 %) sujetos recibieron inmunoglobulina IV.	

Tabla E33B-3. Incidencia y tratamiento de SLC y AN.	
	todos los pacientes con LLBG N=269
SLC[a]	
Cualquier grado, n (%)	113 (42)
Grado 3, n (%)	4 (1)
Grado 4, n (%)	2 (1)
Tiempo hasta aparición (días), mediana (intervalo)	5 (1-14)
Tiempo hasta la resolución (días), mediana (intervalo)	5 (1-17)
AN[b]	
Cualquier grado, n (%)	80 (30)
Grado 3, n (%)	23 (9)
Grado 4, n (%)	4 (1)
Tiempo hasta aparición (días), mediana (intervalo)	9 (1-66)
Tiempo hasta la resolución (días), mediana (intervalo)	11 (1-86)
Admisiones en UCI, n (%)	19 (7)
Para SLC y/o AN	12 (4)
Otras razones	7 (3)
[a]SLC se calificó según los criterios de Lee (Lee DW, et al. Blood 2014;124:188-195); [b]Los AN se basaron en la evaluación del investigador y se calificaron según los Criterios de terminología común para acontecimientos adversos del Instituto Nacional del Cáncer v4.03.	

Tabla E33C. Síntomas emergentes del tratamiento del síndrome de liberación de citocinas (SLC)		
	Pacientes tratados con LDLBG, N=268	
Pacientes con síntomas de SLC de cualquier grado emergentes del tratamiento, n (%)	113 (42)	
Pacientes con síntomas de SLC de grado >_3 emergentes del tratamiento, n (%)	20 (7)	
Incidencia de pacientes, n (%)	**Cualquier grado**	**Grado 3 o 4**
Pirexia	107 (40)	6 (2)
Hipotensión	55 (21)	7 (3)
Taquicardia	47 (18)	0
Escalofríos	34 (13)	0
Hipoxia	26 (10)	9 (3)
Fatiga	17 (6)	0
Cefalea	17 (6)	3 (1)
Náuseas	8 (3)	0
Taquipnea	7 (3)	1 (0,4)
Malestar general	6 (2)	0
Emergente del tratamiento se definió como un síntoma de SLC que se produjo desde el momento de la infusión de la composición de linfocitos T CAR+ hasta dentro de los 90 días posteriores a la última dosis de la composición de linfocitos T CAR+. Cualquier síntoma que ocurriera después del inicio de otro tratamiento contra el cáncer o después de un nuevo tratamiento no se consideró emergente del tratamiento. La toxicidad se clasificó utilizando NCI CTCAE v4.03.[3] "La calificación general de SLC se basa en Lee et al.[4] y no se basa en la clasificación CTCAE de síntomas individuales.		

Tabla E33D. Acontecimientos neurológicos emergentes del tratamiento por grupo		
	Pacientes tratados con LDLBG, N=268	
Incidencia de pacientes, n (%)[a]	**Cualquier grado**	**Grado 3 o 4**
Grupo: Encefalopatía	57 (21)	18 (7)

(continuación)

Tabla E33D. Acontecimientos neurológicos emergentes del tratamiento por grupo		
	Pacientes tratados con LDLBG, N=268	
Incidencia de pacientes, n (%)[a]	**Cualquier grado**	**Grado 3 o 4**
Estado de confusión	30 (11)	2 (0,7)
Encefalopatía	17 (6)	11 (4)
Cambios del estado mental	10 (4)	4 (1,5)
Somnolencia	6 (2)	1 (0,4)
Letargia	5 (2)	0
Otro[b]	25 (9)	2 (1)
Grupo: Afasia	26 (10)	5 (2)
Afasia	22 (8)	3 (1)
Disartria	5 (2)	2 (1)
Otro[c]	4 (1)	0
Grupo: Temblor	26 (10)	0
Temblor	25 (9)	0
Temblor esencial	1 (<1)	0
Grupo: Delirio	16 (6)	4 (1,5)
Agitación	9 (3)	3 (1)
Otro[d]	11 (4)	2 (1)
Grupo: Mareo	11 (4)	2 (0,7)
Mareo	11 (4)	1 (<1)
Síncope	1 (<1)	1 (<1)
Grupo: Cefalea	9 (3)	2 (1)
Cefalea	9 (3)	2 (1)
Migraña	1 (<1)	0
Grupo: Ataxia/Alteración de la marcha	8 (3)	1 (<1)
Ataxia	6 (2)	1 (<1)
Trastorno de la marcha	2 (1)	0
Grupo: Cerebeloso	6 (2)	0
Otro[e]	9 (3)	0

Los acontecimientos neurológicos se definieron como acontecimientos neurológicos evaluados por el investigador relacionados con las composiciones de linfocitos T CAR+ y se clasificaron utilizando los Criterios de terminología común para acontecimientos adversos del Instituto Nacional del Cáncer v4.03.[6]

[a]Los pacientes pueden experimentar más de un acontecimiento.

[b]Otros acontecimientos ocurrieron en 4 o menos pacientes e incluyeron amnesia, trastorno cognitivo, nivel de conciencia deprimido, deterioro de la memoria, efecto plano, trastorno de despersonalización o desrealización, alteración en la atención, incoherente e hipersomnia.

[c]Otros acontecimientos ocurrieron en 4 o menos pacientes e incluyeron disfemia, afonía, habla lenta y trastorno del habla.

[d]Otros acontecimientos ocurrieron en 4 o menos pacientes e incluyeron delirio, desorientación, delirios, alucinación, alucinaciones visuales e irritabilidad.

[e]Otros acontecimientos ocurrieron en 4 o menos pacientes e incluyeron síndrome cerebeloso, dismetría, trastorno del equilibrio, discinesia y alteración de la coordinación ojo-mano.

Tabla E33E-1. Comparación de acontecimientos adversos por nivel de dosis.					
	DL1	**DL1D**	**DL2**	**DL3**	**Total**
Pacientes tratados con LDLBG	**n = 45**	**n = 6**	**n = 176**	**n = 41**	**N=268**
Cualquier TEAE, n (%)	44 (98)	6 (100)	176 (100)	40 (98)	266 (99)
Grado 3 o 4	35 (78)	5 (83)	134 (76)	31 (76)	205 (76)
Grado 5	1 (2)	0	5 (3)	1 (2)	7 (3)
AA grave	16 (36)	3 (50)	83 (47)	20 (49)	122 (45,5)
SLC, n (%)					
Cualquier grado	18 (40)	3 (50)	66 (37,5)	26 (63)	113 (42)
Grado 3 o 4	1 (2)	0	5 (3)	0	6 (2)
AN, n (%)					
Cualquier grado	10 (22)	1 (17)	53 (30)	16 (39)	80 (30)
Grado 3 o 4	7 (16)	1 (17)	16 (9)	3 (7)	27 (10)

AA, acontecimiento adverso; RC, respuesta completa; SLC, síndrome de liberación de citocinas; DL1, nivel de dosis 1 (dosis única); DL1D, nivel de dosis 1 (2 dosis); DL2, nivel de dosis 2 (dosis única); DL3, nivel de dosis 3 (dosis única); AN, acontecimientos neurológicos; TRO, tasa de respuesta objetiva; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.

Tabla E33E-1-2. Comparación de acontecimientos adversos por niveles de dosis única.			
	DL1	**DL2**	**DL3**
Pacientes tratados con LDLBG	**n = 45**	**n = 177**	**n = 41**
Cualquier TEAE, n (%)	44 (98)	177 (100)	40 (98)
Grado 3 o 4	35 (78)	135 (76)	31 (76)
Grado 5	1 (2)	5 (3)	1 (2)
AA grave	16 (36)	83 (47)	20 (49)
SLC, n (%)			
Cualquier grado	18 (40)	66 (37,5)	26 (63)
Grado 3 o 4	1 (2)	5 (3)	0
AN, n (%)			
Cualquier grado	10 (22)	53 (30)	16 (39)
Grado 3 o 4	7 (16)	16 (9)	3 (7)

AA, acontecimiento adverso; RC, respuesta completa; SLC, síndrome de liberación de citocinas; DL1, nivel de dosis 1 (dosis única); DL2, nivel de dosis 2 (dosis única); DL3, nivel de dosis 3 (dosis única); AN, acontecimientos neurológicos; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.

Tabla E33F. Comparación de seguridad en subgrupos de pacientes						
		AADT		**SLC**	**AN**	
Incidencia de pacientes, n (%)	**n**	**Grado 3-5**	**Cualquier grado**	**Grado 3 o 4**	**Cualquier grado**	**Grado 3 o 4**
Edad						
<65 años	157	121 (77)	72 (46)	5 (3)	46 (29)	15 (10)
≥65 años	111	91 (82)	41 (37)	1 (1)	34 (31)	12 (11)
<75 años	241	186 (77)	101 (42)	5 (2)	68 (28)	22 (9)
≥75 años	27	26 (96)	12 (44)	1 (4)	12 (44)	5 (19)
CrCl anterior a LDC						
≥60 ml/min	217	165 (76)	86 (40)	5 (2)	58 (27)	17 (8)
<60 ml/min	51	47 (92)	27 (53)	1 (2)	22 (43)	10 (20)
FEVI en la selección						
≥40 % a <50 %	13	9 (69)	4 (31)	0	4 (31)	1 (8)
≥50 %	255	203 (80)	109 (43)	6 (2)	76 (30)	26 (10)
Respuesta a la terapia previa						
Resistente a quimioterapia	180	142 (79)	76 (42)	6 (3)	50 (28)	20 (11)
Sensible a quimioterapia	88	70 (80)	37 (42)	0	30 (34)	7 (8)
Linfoma secundario del SNC						
Sí	7	7 (100)	2 (29)	0	2 (29)	2 (29)
No	261	205 (79)	111 (42,5)	6 (2)	78 (30)	25 (10)
TCMH previo						
Sí	94	75 (80)	36 (38)	2 (2)	29 (31)	6 (6)
No	174	137 (79)	77 (44)	4 (2)	51 (29)	21 (12)
Recibió terapia de transición						
Sí	159	137 (86)	81 (51)	5 (3)	53 (33)	21 (13)
No	109	75 (69)	32 (29)	1 (0,9)	27 (25)	6 (5,5)
SPD anterior a LDC						
≥50 cm^2	72	63 (88)	43 (60)	3 (4)	31 (43)	12 (17)
<50 cm^2	184	141 (77)	66 (36)	3 (2)	47 (25,5)	15 (8)
CRP inicial						
<20 mg/l	117	86 (74)	35 (30)	1 (0,9)	23 (20)	5 (4)
≥20 mg/l	150	125 (83)	78 (52)	5 (3)	57 (38)	22 (15)
Pacientes ambulatorios	25	17 (68)	12 (48)	1 (4)	11 (44)	2 (8)
Retratamiento recibido[a]	15	12 (80)	5 (33)	1 (8)	ND	ND
Producto recibido no conforme	24	20 (83)	7 (29)	1 (4)	3 (12,5)	1 (4)

SNC, sistema nervioso central; RC, respuesta completa; CrCl, aclaramiento de creatinina; PCR, proteína C reactiva; TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LCD, quimioterapia con reducción de linfocitos; FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; ND, no disponible; AN, acontecimientos neurológicos; SPD, suma del producto de diámetros perpendiculares; AADT, acontecimientos adversos emergentes del tratamiento.
[a]Pacientes que lograron RC después de la infusión inicial de composición de linfocitos T CAR+ pero que posteriormente desarrollaron una enfermedad progresiva.

Tabla E33G. Eficacia para pacientes ambulatorios, pacientes retirados y producto no conforme.			
	Pacientes ambulatorios n = 25	**Pacientes retirados[a] n = 15**	**Pacientes que reciben producto no conforme[b] n = 24**
Seguridad, n %			
Cualquier AADT	25 (100)	14 (93)	24 (100)
Grado 3-4	17 (68)	12 (80)	18 (75)
Grado 5	0	1 (7)	1 (4)[c]
AA graves	18 (72)	ND	11 (46)
SLC, n (%)			
Cualquier grado	12 (48)	5 (33)	7 (29)
Grado ≥3	1 (4)	1 (7)	1 (4)
AN, n (%)			
Cualquier grado	11 (44)	ND	3 (12,5)
Grado ≥3	2 (8)	ND	1 (4)[c]

IC, intervalo de confianza; RC, respuesta completa; SLC, síndrome de liberación de citocinas; ND, no disponible; AN, acontecimientos neurológicos; NA, no alcanzado; TRO, tasa de respuesta objetiva.
"Todos los análisis se basaron en los resultados de seguridad y eficacia después del retratamiento.
[b]El producto no conforme se definió como cualquier producto en el que uno o ambos componentes no cumplieran con las especificaciones de liberación para las composiciones de linfocitos T CAR+.
[c]Un paciente tuvo un AADT de mucormicosis de grado 5 que comenzó y terminó el día 4 del estudio y que no se consideró relacionado con la quimioterapia con reducción de linfocitos.
[d]Según evaluación del investigador.

E. Resultados de eficacia y respuesta

Los resultados de eficacia y respuesta de los sujetos tratados en el punto de tiempo se exponen en la **Tabla E33H-1.** La respuesta y la durabilidad según la evaluación del IRC se describen en la **Tabla E33H-2.** La probabilidad de respuesta continua y la duración de la respuesta se describen en la **FIG. 58.** La mediana de seguimiento (IC del 95 %) fue de 12 meses (intervalo 11,2-16,7).

Entre los sujetos evaluables para respuesta (n=255), la TRO fue del 73 % (IC del 95 %, 67-78); la tasa de RC fue del 53 % (IC del 95 %, 47-59). Las respuestas fueron similares en todos los subgrupos de sujetos, por ejemplo, incluso según los subtipos de enfermedades, edad (por ejemplo, sujetos de 65 años o más), sujetos con alta carga tumoral y estado sensible y resistente a la quimioterapia, como se muestra en la **Tabla E33H.** La **Tabla E33I-1** y **E33I-2** muestran una comparación de la eficacia por nivel de dosis. La **Tabla E33J** muestra una comparación de la eficacia según el conjunto de análisis. La **Tabla E33K** muestra eficacia para pacientes ambulatorios, pacientes retratados y aquellos que recibieron productos no conformes. La eficacia fue similar en una gama estrecha de DL, sin diferencias estadísticamente significativas entre las DL individuales para la TRO (P = 0,68), SSP (P = 0,46) y DR (P = 0,76), o entre conjuntos de análisis. Se cumplió el criterio de valoración principal preespecificado de TRO para el PAS. El nuevo tratamiento con composiciones de linfocitos T CAR+ (n=15) dio como resultado una TRO baja (20 %). La eficacia entre los pacientes que recibieron el producto no conforme (n=24) fue similar a la de aquellos que recibieron composiciones de linfocitos T CAR+.

Las respuestas fueron rápidas y duraderas, con una mediana de tiempo hasta la primera respuesta de 1 mes (intervalo, 0,7-6,0) y una mediana de DR de 13,3 meses (IC del 95 %, 8,2-no alcanzado [NA]) en una mediana de seguimiento de 10,8 meses. No se alcanzó la mediana de DR en pacientes con RC (IC del 95 %, 13,3-NA) (**FIG. 49A**). La mediana de SSP fue de 6,8 meses (IC del 95 %, 3,3-11,8). Entre los pacientes con RC, no se alcanzó la mediana de SSP (IC del 95 %, 14,1-NA) (**FIG. 49B**). La mediana del índice de SSP fue de 0,72. En general, SSP después de la infusión de linfocitos T CAR$^+$ fue sustancialmente más prolongada que la SSP de la terapia inmediatamente anterior. La mediana de SVG fue 19,1 meses, con una mediana de seguimiento de 12,2 meses y la SVG estimada a los 12 meses fue del 55 % (IC del 95 %, 48,4-61,9). Entre los pacientes con consiguen RC, no se alcanzó la mediana de SVG estimada (IC del 95 %, NA-NA) (**FIG. 49C**). La eficacia fue similar en una gama estrecha de DL (**Tabla E33I**), sin diferencias estadísticamente significativas entre las DL individuales para la TRO (P = 0,68), SSP (P = 0,46) y DR (P = 0,76), o entre conjuntos de análisis (**Tabla E33J**). El nuevo tratamiento con composiciones de linfocitos T-CAR (n=15) dio como resultado una TRO baja (20 %). La eficacia entre los pacientes que recibieron el producto no conforme (n=24) fue similar a la de aquellos que recibieron composiciones de linfocitos T CAR+ **(Tabla E33K).**

Como se muestra en la **FIG. 59,** La ORR no difirió según la edad, subtipo LLBG, TCMH previo o linfoma secundario del SNC. Los sujetos que necesitaron terapia de transición y aquellos con una alta carga de enfermedad tendieron a una TRO más baja. El patrón de tasas de RC para los subgrupos fue similar al de la TRO. SSP **(FIG. 60 y Tabla E33L)** y SVG **(FIG. 61 y Tabla E33M)** fueron evaluados mediante respuesta objetiva. En este punto de tiempo de análisis, el 37 % de los sujetos tuvo 12 meses de seguimiento del estudio y el 68 % tuvo 6 meses de seguimiento del estudio. La SSP por subtipo histológico se muestra en la **FIG. 62.**

Tabla E33H-1. Resultados de respuesta			
Respuesta	**Sujetos evaluables N=255**		**Sujetos evaluables N=256**
Respuesta	TRO, n (%)	RC, n (%)	RC, n (%)
cohorte de LDLBG, todos los sujetos	186 (73)	135 (53)	136 (53)
LDLBG NOS (n=131)	89 (68)	63 (48)	64 (49)
Transformado a partir de LF (n=57)	48 (84)	36 (63)	36 (63)
Transformado a partir de linfoma indolente (n=18)	11 (61)	7 (39)	7 (39)
LLBMP (n=14)	11 (79)	7 (50)	7 (50)
LLBAG (n=33)	25 (76)	20 (61)	20 (61)
LF3B (n=2) o (n=3)	2 (100)	2 (100)	2 (67)
Edad ≥65 años (n=107) o (n=108)	83 (78)	65 (61)	65 (60)
LDH ≥500 U/l (n=57)	36 (63)	23 (40)	23 (40)
SPD ≥50 cm^2 (n=69) o (n=70)	43 (62)	23 (330	23 (33)
Sensible a quimioterapia (n=85)	66 (78)	46 (54)	ND
Resistente a quimioterapia (n=170) o (n=171)	120 (71)	89 (52)	90 (53)
Recibió un TCMH previo (n=87)	68 (78)	55 (63)	55 (63)
Recibió terapia de transición (n=150)	101 (67)	67 (45)	68 (45)
[a]Las citopenias prolongadas se definieron como evaluaciones de laboratorio de grado ≥3 en el día 29 del estudio. RC, respuesta completa; SLC, síndrome de liberación de citocinas; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; LF, linfoma folicular; FL3B, linfoma folicular grado 3B; LLBAG, linfoma de linfocitos B de alto grado; TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LDH, lactato deshidrogenasa; AN, acontecimientos neurológicos; NOS, no especificado de otra manera; TRO, Tasa de respuesta global; LLBMP, linfoma de linfocitos B mediastínico primario; SPD, suma del producto de diámetros más grandes; Los AADT, acontecimientos adversos emergentes del tratamiento.			

Tabla E33H-2. Respuesta y durabilidad por Evaluación de IRC	
Pacientes evaluables en eficacia N=255	
TRO (IC del 95 %)	73 % (67-78)
Tasa de RC (IC del 95 %)	53% (47-59)
Tiempo hasta la primera RC o RP,	0,95 (0,7-8,9)
mediana (intervalo)	
Mediana de DR (IC del 95 %), meses[a]	
DR a los 6 meses (IC del 95 %)	60,4 (52,6-67,3)
DR a los 12 meses (IC del 95 %)	54,7 (46,7-62,0)
IC, intervalo de confianza; RC, respuesta completa; DDR, duración de la respuesta; NA, no alcanzado; TRO, tasa de respuesta objetiva.	

Tabla E33I-1. Comparación de eficacia por nivel de dosis.					
	DL1	**DL1D**	**DL2**	**DL3**	**Total**
Pacientes evaluables en eficacia tratados con LLBG	**n = 40**	**n = 6**	**n = 168**	**n = 41**	**N=255**
TRO, n (%)	27 (67,5)	4 (67)	125 (74)	30 (73)	186 (73)
RC, n (%)	24 (60)	3 (50)	88 (52)	20 (49)	135 (53)
AA, acontecimiento adverso; RC, respuesta completa; SLC, síndrome de liberación de citocinas; DL1, nivel de dosis 1 (dosis única); DL1D, nivel de dosis 1 (2 dosis); DL2, nivel de dosis 2 (dosis única); DL3, nivel de dosis 3 (dosis única); AN, acontecimientos neurológicos; TRO, tasa de respuesta objetiva; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.					

Tabla E33I-1-2. Comparación de eficacia por nivel de dosis.			
	DL1	**DL2**	**DL3**
Pacientes evaluables en eficacia	**n = 40**	**n = 169**	**n = 41**
TRO, n (%)	27 (67,5)[a]	125 (74)	30 (73)
RC, n (%)	24 (60)	88 (52)	21 (51)
[a]Todos los porcentajes se redondean a menos que el decimal sea igual a 0,5. RC, respuesta completa; DL, nivel de dosis; TRO, tasa de respuesta objetiva.			

Tabla E33J. Comparación de eficacia según conjunto de análisis.			
	Conjunto de análisis		
	Eficacia de LLBG[a]	**PAS[b]**	**Intención de tratar[c]**
	N=255	**N=133**	**N=342**
Respuesta, n (%)			
TRO	186 (73)	99 (74)	208 (61)
RC	135 (53)	72 (54)	149 (44)
RP	51 (20)	27 (20)	59 (17)
CE	28 (11)	13 (10)	32 (9)
PE	28 (11)	14 (11)	33 (10)
DR (meses), mediana (IC del 95 %)	13,3 (8,2-NA)	11,1 (8,0-NA)	13,3 (8,2-NA)
SSP (meses), mediana (IC del 95 %)	6,8 (3,3-11,8)	9,0 (3,1-14,1)	4,8 (4,3-7,1)
SSP a los 6 meses, %	50,6	53,0	46,3
SVG (meses), mediana (IC del 95 %)	19,9 (10,9-NA)	19,9 (10,4-NA)	12,8 (10,6-21,1)
SVG a los 6 meses, %	74,4	72,9	70,5

IC, intervalo de confianza; RC, respuesta completa; DDR, duración de la respuesta; LLBG, linfoma de linfocitos B grandes; NI, no informado; TRO, tasa de respuesta objetiva; SVG, supervivencia global; PE, progresión de la enfermedad; SSP, supervivencia libre de progresión; RP, respuesta parcial; CE, cáncer estable.
"El conjunto evaluable en eficacia tratado con LLBG incluyó a todos los pacientes en el conjunto tratado con LLBG que tenían enfermedad positiva para TEP presente antes de la administración de la composición de linfocitos T CAR+ según la evaluación del comité de revisión independiente.
[b]El conjunto de análisis primario (PAS) fue un subconjunto del conjunto de análisis tratado con LLBG tratado en DL2S.
[c]El conjunto de análisis por intención de tratar incluyó a todos los pacientes que fueron sometidos a leucocitaféresis.

Tabla E33K. Resultados de eficacia para pacientes ambulatorios, pacientes retirados y producto no conforme.			
	Pacientes ambulatorios	**Pacientes retirados[a]**	**Pacientes que reciben producto no conforme[b]**
	n = 25	**n = 15**	**n = 24**
Efectividad, % (IC del 95 %)			
TRO	80 (59,3-93,2)	20 (4,3-48,1)[d]	62,5 (40,6-81,2)
RC	56 (34,9-75,6)	13 (1,7-40,5)[d]	42 (22,1-63,4)
Duración de la respuesta, mediana (CI del 95 %), meses	NA (2,4-NA)	ND	NA (3,1-NA)
Supervivencia sin progresión, mediana (CI del 95 %), meses	5,4 (3,0-NA)	ND	4,6 (3,1, NA)

RC, respuesta completa; ND, no disponible; NA, no alcanzado; TRO, tasa de respuesta objetiva. [d]Según evaluación del investigador.

Tabla E33L. SSP evaluada por respuesta objetiva	
	SSP
6 meses (IC del 95 %), %	
Todos los sujetos	51,4 (44,6-57,7)
Sujetos con RC	76,1 (67,9-82,4)
12 meses (IC del 95 %), %	
Todos los sujetos	44,1 (37,3-50,7)
Sujetos con RC	65,1 (56,1-72,7)

Tabla E33M. SVG evaluada por respuesta objetiva	
	SVG
6 meses (IC del 95 %), %	
Todos los sujetos	74,4 (68,4-79,4)
Sujetos con RC	94,1(88,6-97,0)
12 meses (IC del 95 %), %	
Todos los sujetos	57,9 (51,3-63,8)
Sujetos con RC	85,5 (78,2-90,5)

Se observaron respuestas en todos los subgrupos, incluyendo infusión/monitoreo ambulatorio y pacientes de alto riesgo, como subtipos histológicos poco comunes y LLBAG, edad ≥65 años, enfermedad resistente a quimioterapia y aquellos que requieren terapia de transición. Entre 6 pacientes con linfoma secundario del SNC evaluable para

respuesta, 3 lograron una RC. De forma similar, las respuestas fueron duraderas en subgrupos de alto riesgo de edad ≥65 años, LLBAG, enfermedad resistente a quimioterapia y linfoma secundario del SNC **(FIGS. 50A-50B).** Sin embargo, para pacientes con alta carga tumoral, SSP y DR fueron más cortos. Como se muestra en la **Tabla E33N,** la SSP fue más corta en los pacientes que requirieron terapia de transición. **FIG. 51A** muestra la duración de la respuesta y la supervivencia sin progresión. **FIG. 51B** muestra la duración de la respuesta por grupo histológico. **FIG. 51C** muestra la duración de la respuesta por terapia de transición. **FIG. 51D** muestra la duración de la respuesta por el estado sensible a quimioterapia frente a estado resistente a quimioterapia. **FIG. 51E** muestra la duración de la respuesta por estado del SPD anterior a LDC. **FIG. 51F** muestra la duración de la respuesta por grupo de edad. **FIG. 51G** muestra la duración de la respuesta en sujetos con frente a sin comorbilidades.

Tabla E33N. DR y SSP por Evaluación de IRC.

Parámetro	**DR**		**SSP**	
	Relación de riesgo (IC del 95 %)	**Valor p[b]**	**Relación de riesgo (IC del 95 %)**	**Valor p[b]**
SPD anterior a LDC ≥50 cm^2 (referencia: SPD <50 cm^2)	1,88 (1,16-3,06)	0,0111	1,77 (1,22-2,58)	0,0028
Terapia de transición (referencia: n.º)	1,37 (0,87-2,16)	0,1805	1,45 (1,01-2,09)	0,0436
Respondió a la última terapia anterior (referencia: resistente a tratamiento)	0,68 (0,39-1,20)	0,1886	0,68 (0,43-1,08)	0,1015

IC, intervalo de confianza; DDR, duración de la respuesta; IRC, comité de revisión independiente; LLBG, linfoma de linfocitos B grandes; LDC, quimioterapia con reducción de linfocitos; SSP, supervivencia libre de progresión; SPD, suma del producto de diámetros perpendiculares.
"Análisis ad hoc (modelo de riesgos proporcionales de Cox) utilizando el conjunto de análisis evaluable para eficacia tratado con LLBG.
[b]Los valores de p son descriptivos.

F. Cinética celular, aplasia de linfocitos B e inmunogenicidad

La cinética celular de los linfocitos T CAR+ en sangre se basó en todos los pacientes de la cohorte tratada con LLBG que recibieron linfocitos T CAR+ como una única infusión y que tenían mediciones iniciales (antes de la infusión de linfocitos T CAR+) y posteriores al inicio al menos en los primeros 28 días. Los datos se evaluaron mediante un ensayo de PCR cuantitativo en tiempo real validado para la detección del transgén de linfocitos T CAR+.

La aplasia de linfocitos B se definió como linfocitos B CD19+ que representan <3 % de los linfocitos de sangre periférica (Mueller KT et al. Clin Cancer Res. 2018.;24:6175-84)

Los anticuerpos anti-linfocitos T que expresan CAR se detectaron mediante un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia. La inmunogenicidad se evaluó calculando la prevalencia de anticuerpos anti-linfocitos T que expresan CAR (anticuerpos preexistentes que se unen a los linfocitos T que expresan CAR medidos antes de la primera infusión de linfocitos T que expresan CAR) y la incidencia de anticuerpos anti-linfocitos T que expresan CAR (anticuerpos inducidos o potenciados por el tratamiento que se unen a los linfocitos T que expresan CAR en cualquier punto de tiempo después de la primera infusión de linfocitos T que expresan CAR).

Entre 238 pacientes evaluables, la mediana de tiempo hasta la expansión máxima de los linfocitos T CAR en todas las DL fue de 12 días (rango intercuartil, 10-15); la mediana de expansión máxima ($C_{máx}$) fue de 23.963,7 copias/µg, y la mediana del área bajo la curva durante los primeros 28 días después de la infusión (ABC_{0-28d}) fue de 214.283,0 días*copias/µg. La expansión fue similar en todas las DL **(Tabla E33O).**

Los linfocitos T CAR+ mostraron persistencia a largo plazo a 1 año en el 59 % (n=22/37). Los niveles de linfocitos B CD19+ permanecieron bajos durante 2-3 meses antes de aumentar, y la cinética de expansión de las células CAR+ CD4+ y CD8+ fue similar. Los resultados de los linfocitos T CAR+ analizados mediante qPCR y citometría de flujo frente a los linfocitos B CD19+ analizados para 261 sujetos se muestran en la **FIG. 63 y Tabla E33P.** Los resultados para linfocitos T CAR+ (CD3+, CD8+ y CD4+) mediante citometría de flujo se muestran en la **FIG. 64.**

Los sujetos que respondieron (RC o RP; n=175) tuvieron una mediana más alta de $C_{máx}$ (4,06 veces) y ABC_{0-28d} (2,59 veces) que los que no respondieron (n=50). La mediana más alta de $C_{máx}$ también se asoció a una mayor carga tumoral inicial (2,45 veces), SLC de cualquier grado (2,31 veces), AN de cualquier grado (3,46 veces) y AN de grado ≥3 (5,06 veces) **(Tabla E33Q).** Los linfocitos T CAR+ mostraron persistencia a largo plazo a 1 año en el 59 % (n=22/37) de los pacientes; el 73 % (n=36/49) tenía aplasia de linfocitos B persistente a 1 año. Se detectaron anticuerpos anti-linfocito T CAR+ en el 11 % de los pacientes (n=28/261) antes de la primera infusión de composiciones de linfocitos T CAR+ y en el 11 % (n=27/257) en cualquier momento después de la infusión (la mayoría eran inducidos por el tratamiento). La relación entre el estado y la eficacia de los anticuerpos anti-linfocitos T CAR+, la seguridad o la cinética celular no fueron concluyentes debido al pequeño número de pacientes con pruebas de anticuerpos positivas.

Tabla E33O. Parámetros cinéticos celulares por nivel de dosis				
	Pacientes con LLBG evaluables[a]			
Parámetro	DL1	DL2	DL3	DL1 + DL2 + DL3
	n = 40	n = 166	n = 32	n = 238
$C_{máx}$ (copias/µg)				
Mediana	20958,2	25098,5	23548,8	23963,7
Q1, Q3	5634,7, 71868,6	9806,3, 79118,5	6374,9, 71267,3	8159,3, 78748,2
Tmáx (día)				
Mediana	14,0	11,0	10,0	12,0
Q1, Q3	12,0, 19,5	10,0, 14,0	7,5, 14,0	10,0, 15,0
ABC_{0-28d} (día*copias/µg)				
Mediana	186994,0	229062,6	185393,9	214283,0
Q1, Q3	41717,3, 510264,9	96750,8, 689751,7	54491,0, 849879,3	77281,7, 689751,7

ABC_{0-28d}, área bajo la curva durante los primeros 28 días después de la infusión (es decir, del día 1 al día 29); $C_{máx}$, expansión máxima; DL1, nivel de dosis 1 (dosis única); DL2, nivel de dosis 2 (dosis única); DL3, nivel de dosis 3 (dosis única); LLBG, linfoma de linfocitos B grandes; Q1, Q3, primer y tercer cuartiles; qPCR, reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa; $T_{máx}$, tiempo hasta la expansión máxima.
[a]Número de pacientes con parámetros cinéticos celulares. Se calcularon los parámetros cinéticos celulares no compartimentales para los pacientes a los que se les realizó una medición cinética celular el día 29 o más tarde.

Tabla E33P. Análisis farmacocinético de linfocitos T CAR+.		
	[1333]	**Conjunto de análisis PK (qPCR) (n=261)**
$T_{máx}$, mediana (RIQ)	**[1334]**	12(10-15)
$C_{máx}$, mediana	**[1335]**	23.963,7 copias/µg
ABC_{0-28d}, mediana	**[1336]**	214.283,0 días*copias/µg

Tabla E33Q. Múltiplo de variación de mediana de $C_{máx}$ y ABC_{0-28d} en subgrupos de sujetos			
	n	**Múltiplo de variación de mediana de $C_{máx}$**	**Múltiplo de variación de mediana de ABC_{0-28d}**
SPD al inicio del estudio			
≥50 cm^2 frente a <50 cm^2	59 167	2,45	2,86
Cualquier grado de SLC frente a ningún SLC[a]	95 143	2,31	2,41
Cualquier grado de AN frente a ningún AN	70 168	3,46	3,88
AN de grado ≥3 frente a AN de grado 0-2	19 219	5,06	5,99
Sujetos que responden (RC+RP) frente a que no responden	175 50	4,06	2,59

ABC, área bajo la curva de concentración; $C_{máx}$, concentración máxima; RC, respuesta completa; SLC, síndrome de liberación de citocinas; AN, acontecimientos neurológicos; RP, respuesta parcial; SPD, suma del producto de diámetros perpendiculares.
"El análisis de cualquier grado de SLC frente a SLC de grado ≥3 no se incluye porque hubo muy pocos pacientes con SLC de grado ≥3.

G. Conclusión

Los resultados informados en este ejemplo de terapia con linfocitos T CAR dirigidos a CD19 en sujetos con LLBG agresivo recurrente/resistente a tratamiento muestran que el tratamiento con linfocito T CAR+ anti-CD 19 dio como resultado una respuesta duradera, con una mayor expansión de linfocitos T CAR in vivo, y los linfocitos T CAR persistieron a largo plazo después de la infusión de linfocitos T CAR+ anti-CD 19. Estos resultados se observaron en una población de sujetos fuertemente pretratados con enfermedades agresivas, de alto riesgo, la mayoría de los cuales eran resistentes a quimioterapia y requerían tratamiento inmediato para el control de la enfermedad con terapia de transición. El estudio también incluyó subgrupos de sujetos con características de mal pronóstico, como afectación secundaria del SNC, LDLBG transformado a partir de linfomas indolentes distintos del LF, LF3B y comorbilidades moderadas. La población de sujetos tratada en el estudio era generalmente de mayor edad, incluidos los mayores de 75 años. Estos resultados se observaron con una baja incidencia de SLC y AN graves. Menos de la mitad de todos los sujetos en el estudio descrito en el presente documento desarrollaron SLC o AN, y la incidencia de SLC y AN de grado 3 o superior fue baja (2 % y 10 %, respectivamente), y no se produjo ningún SLC o AN fatal. La baja incidencia global y la gravedad de SLC y AN, junto con su aparición tardía (mediana, 5 y 9 días, respectivamente), apoyan la administración/monitoreo ambulatorio en sujetos seleccionados. Los resultados de seguridad y eficacia en los 25 sujetos que recibieron linfocitos T CAR+ anti-CD 19 en el entorno ambulatorio en

diversos estudios descritos en el presente documento fueron similares a los de toda la población de sujetos tratados. Los resultados demostraron que la administración de células que expresan CAR anti-CD 19 demostró una respuesta duradera con un perfil de seguridad favorable en sujetos con LNH de linfocitos B grandes R/R. La baja incidencia y la aparición tardía de SLC y AN permitieron la administración ambulatoria. Estos resultados muestran que se observaron respuestas clínicamente significativas en todos los subgrupos histológicos y en sujetos con mal pronóstico, incluyendo sujetos que eran refractarios, ancianos, tenían comorbilidad y/o tenían una carga tumoral elevada. El tratamiento con composiciones de linfocitos T CAR+ como se describe en el presente documento dio como resultado una rápida, alta tasa de RC duradera y baja incidencia de SLC y AN graves entre pacientes con LLBG de alto riesgo, agresivo recurrente/resistente a tratamiento en este estudio. Se observó actividad clínicamente significativa en subgrupos de pacientes con necesidades médicas no cubiertas, incluidos subtipos histológicos de LDLBG poco comunes y aquellos con características de mal pronóstico. La baja incidencia de SLC y AN graves y el tiempo de aparición más tardío permitió la administración/monitoreo ambulatorio. Los resultados respaldan la utilidad de las composiciones y métodos descritos para tratar grupos más grandes de sujetos y sitios potenciales de atención.

Ejemplo 14 Administración de células que expresan CAR anti-CD19 para el tratamiento de sujetos no elegibles para trasplante de segunda línea (TNE) con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento

Las composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas que contenían linfocitos T CD4+ y CD8+ autólogos que expresaban un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19 empleadas en los estudios descritos en los Ejemplos 1, 3 y 6 anteriores, se administraron como terapia de segunda línea a sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento (R/R) no elegible para trasplante (TNE), como el linfoma de linfocitos B grandes recurrente y resistente a tratamiento (R/R), que habían fracasado en una terapia de primera línea.

Los sujetos elegibles para el tratamiento incluyeron sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) de linfocitos B grandes recurrente/resistente a tratamiento (linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), no especificado de otra manera [LNH indolente de novo o transformado, linfoma de alto grado con MYC y BCL2 y/o BCL6 [linfoma de doble/triple impacto], o linfoma folicular de grado 3B) y habían recibido solo 1 línea previa de inmunoquimioterapia que contenía una antraciclina y un agente dirigido a CD20 (p. ej., R-CHOP; rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina clorhidrato (hidroxidaunomicina), sulfato de vincristina (oncovin) y prednisona). Los sujetos incluyeron aquellos que se consideraron no elegibles para quimioterapia de dosis alta seguida de TCMH (p. ej., basándose en la edad, estado funcional y/o comorbilidades) si cumplían al menos uno de los siguientes criterios de TNE y al mismo tiempo cumplían los criterios para la terapia con linfocitos T CAR: edad ≥70 años, estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de 2 y/o deterioro pulmonar (DLCO ≤60 %, pero SaO_2≥92 % con aire ambiente y CTCAE ≤1 disnea), cardiaca (FEVI ≥40 % y <50 %), renal (aclaramiento de creatinina >30 y <60 ml/min) o hepática (AST/ALT >2 y ≤5 x LSN) (véase la **Tabla E34A).** Los sujetos elegibles para el tratamiento también incluyeron aquellos con enfermedad positiva para la tomografía por emisión de positrones (TEP), confirmación histológica del diagnóstico en la última recaída (p. ej., debe haber suficiente material tumoral disponible para la confirmación central del diagnóstico, de lo contrario, se exige una nueva biopsia del tumor), un ECOG PS de 0, 1, o 2, y/o acceso vascular adecuado para el procedimiento de leucocitaféresis (ya sea vía periférica o vía colocada quirúrgicamente). Los sujetos que habían recibido previamente la administración de linfocitos T que expresaban el mismo CAR anti-CD 19 como se describió anteriormente y lograron una respuesta completa y habían recaído fueron elegibles para el retratamiento.

Los puntos finales primarios incluyeron la tasa de respuesta objetiva (TRO) y los puntos finales secundarios incluyeron acontecimientos adversos (AA), tasa de respuesta completa (TRC), duración de la respuesta (DR), perfil farmacocinético, supervivencia sin progresión estimada, supervivencia sin acontecimientos, supervivencia global, alteraciones de laboratorio y calidad de vida relacionada con la salud. La eficacia se evaluó según los criterios de Lugano de 2014 (Cheson BD, et al. J Clin Oncol. 2014; 32:3059-3067) y SLC se calificó utilizando los criterios de Lee (Lee DW, et al. Blood. 2014;124:188-195). AN fueron acontecimientos adversos (AA) que se consideraron relacionados con composiciones de linfocitos T CAR$^+$. Los AA, excepto SLC, se clasificaron usando los criterios de terminología común para acontecimientos adversos del Instituto Nacional del Cáncer, versión 4.03. Los sujetos fueron monitoreados para detectar AA emergentes del tratamiento (AADT) durante 90 días después de la administración de composición de linfocitos T CAR$^+$. Los sujetos podrían ser tratados como pacientes ambulatorios a discreción del investigador. Se consideró que los sujetos eran monitoreados como pacientes ambulatorios si los pacientes abandonaban la clínica o eran dados de alta del hospital o abandonaban la clínica después del final del período de observación posterior a la infusión. Se consideró que los sujetos eran monitoreados como pacientes hospitalizados si eran admitidos en el hospital durante la infusión de composición de linfocitos T CAR$^+$ o inmediatamente después del período de observación posterior a la infusión. Los parámetros farmacocinéticos (PK) se determinaron mediante citometría de flujo.

Tabla E34A. Criterios TNE	
Criterios [a]	Detalles
Edad	Edad >_70 años
ECOG PS	ECOG PS de 2
Función pulmonar deteriorada	DLCO ≤60 % ajustado a la concentración de hemoglobina (DLCO ≤60 % pero saturación de oxígeno ≥92 % en aire ambiente y NCI CTCAE ≤1 disnea)
Función cardiaca deteriorada	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo ≥40 % a ≤50 %; evaluada mediante ecocardiograma o exploración de adquisición múltiple realizada dentro de las 4 semanas posteriores a la determinación de la elegibilidad
Función renal deteriorada	Aclaramiento de creatinina (Cockcroft y Gault o medición directa) >30 y <60 ml/min
Función hepática deteriorada	Aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa >2 y ≤5 x LSN
DLCO, capacidad de difusión de los pulmones de monóxido de carbono; ECOG PS, Estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este; CTCAE del NCI, criterios de terminología común para acontecimientos adversos del Instituto Nacional del Cáncer, v 4.03; LSN, límite superior de la normalidad. [a] Los criterios de TNE se desarrollaron basándose en la bibliografía publicada, directrices de tratamiento y opiniones de expertos de médicos de EE.UU. y Europa.	

Ejemplo 14.A

En el primer punto de tiempo del análisis, un total de 10 sujetos se habían sometido a leucocitaféresis, de los cuales 9 recibieron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ y 1 sujeto estaba esperando tratamiento. Para estos sujetos, se fabricaron con éxito composiciones de linfocitos T CAR+ para todos los sujetos. Los sujetos recibieron una dosis objetivo de DL2 (100×10^6 linfocitos T que expresan CAR) entre 2 y 7 días después de la reducción de linfocitos con fludarabina/ciclofosfamida durante 3 días, como se describe en el Ejemplo 1. Cinco (5) sujetos recibieron infusión y seguimiento de forma ambulatoria.

La mediana de edad fue 71 (intervalo, 64-79) años y 5 sujetos eran hombres. Basándose en análisis histológicos, los sujetos tenían LDLBG NOS (n=7) y linfoma folicular transformado (LFt, n=2); dos sujetos tuvieron triple impacto (uno de los cuales tenía histología LFt). Cinco sujetos recayeron y 4 sujetos tuvieron enfermedad resistente a la terapia anterior. La mediana de SPD y LDH fue de 26,6 $cm.^2$ y 201 U/l, respectivamente. Cuatro sujetos tenían una carga tumoral elevada con una SPD de ≥50 cm^2 (n=4) y LDH de ≥500 U/l (n=1). La mediana de la puntuación del índice de comorbilidad del trasplante de células hematopoyéticas (HCT-CI) fue de 3 (intervalo, 0-3).

Seis sujetos tuvieron uno o más acontecimientos adversos durante el tratamiento (AADT) de grado ≥3, que fueron principalmente citopenias. Tres sujetos tuvieron citopenias prolongadas de grado ≥3 el día 29. Dos sujetos tuvieron infecciones de cualquier grado y ningún sujeto tuvo una infección emergente del tratamiento de grado ≥3. Ningún sujeto tuvo SLC o AN, y ningún sujeto recibió tocilizumab, corticosteroides o vasopresores. No hubo casos de síndrome de activación de macrófagos, síndrome de lisis tumoral, reacciones a la infusión o AADT de grado 5. Entre los 5 sujetos tratados y seguidos de forma ambulatoria, ninguno fue ingresado en el hospital por acontecimientos adversos dentro de los primeros 29 días posteriores a la infusión de linfocitos T que expresan CAR.

Los 9 sujetos lograron una respuesta objetiva. Cuatro sujetos lograron una respuesta completa (RC); y en el momento del análisis, continuaron teniendo RC en curso. Cinco sujetos lograron una respuesta parcial (RP); y 2 sujetos continuaron exhibiendo RP en curso en el momento del análisis. Los resultados fueron similares en los sujetos tratados en el entorno hospitalario en comparación con los sujetos en el entorno ambulatorio. La mediana de seguimiento fue de 3,5 meses. La mediana de tiempo (intervalo) hasta alcanzar el pico de expansión de los linfocitos T CAR fue de 10 (7-21) días.

Estos resultados son consistentes con la observación de que se pueden administrar con éxito linfocitos T que expresan CAR anti-CD 19, incluso en el entorno ambulatorio, como terapia de segunda línea en sujetos con LNH de linfocitos B agresivo R/R que no eran elegibles para quimioterapia de dosis alta y TCMH según un criterio preespecificado.

Ejemplo 14.B

En un segundo punto de tiempo de análisis, un total de 19 sujetos se habían sometido a leucocitaféresis, de los cuales 13 recibieron composiciones de linfocitos T CAR$^+$. Para estos sujetos, se fabricaron con éxito composiciones de linfocitos T CAR+ para todos los sujetos. Seis sujetos fueron tratados y monitoreados de forma ambulatoria. Todos los sujetos que recibieron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ se incluyeron en el análisis de seguridad y 12 en el análisis de eficacia. De los 13 sujetos que habían recibido la composición de linfocitos T CAR+ en el momento del análisis, 9 sujetos tuvieron 3 meses o más de seguimiento. Ningún sujeto recibió un producto no conforme (p. ej.,

producto para el cual uno o ambos componentes de las células CD8 o CD4 no cumplían con las especificaciones de liberación para las composiciones de linfocitos T CAR+) y no hubo fallas de fabricación.

La mediana de edad fue 72 años. En el cribado, 8 sujetos cumplieron 1 criterio TNE, 4 sujetos cumplieron 2 criterios TNE y 1 sujeto cumplió ≥3 criterios TNE. Entre los 6 sujetos tratados y seguidos de forma ambulatoria, ninguno fue hospitalizado por AA dentro de los primeros 29 días después de la infusión de la composición de linfocitos T CAR+ **(Tabla E34B).** Ocho sujetos (61,5 %) experimentaron AADT de grado 3 o 4, principalmente citopenias. Ningún sujeto murió después de la infusión de composición de linfocitos T CAR+ **(Tabla E34C).**

Tabla E34B. Datos demográficos y características clínicas al inicio.	
	Sujetos (N=13)
Hombres, n (%)	7 (54)
Edad, años, mediana (intervalo)	72 (64-80)
Edad, años, n (%)	
<65	198)
≥65	12 (92)
Criterios TNE,[a] n (%)	
Edad >_70 años	8 (61,5)
ECOG PS de 2	4(310
DLCO≤60 %	1 (8)
FEVI <50 %	1 (8)
Aclaramiento de creatinina <60 ml/min	4 (31)
AST/ALT >2 x LSN	0
Subtipos de LNH de linfocitos B, n (%)	
LDLBG NOS	7 (54)
LF transformo	2 (15)
Linfoma de alto grado con histología LDLBG	3 (23)
LF3B	1 (8)
LDH ≥500 U/l, n (%)	3 (23)
SPD ≥50 cm^2, n (%)	5 (38)
Recurrente, n (%) b	6 (46)
Resistente a tratamiento, n (%)	7 (54)
Puntuación HCT-CI, mediana (intervalo)	3(0-9)
Entorno de tratamiento, n (%)	
Paciente hospitalario	7 (54)
Paciente ambulatorio	6 (46)
ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato DLCO, capacidad de difusión de carbono de los pulmones Estado funcional del grupo; LF, linfoma folicular; índice de comorbilidad del trasplante de células hematopoyéticas; LDH, fracción de eyección; LNH, linfoma no Hodgkin; NOS, diámetros perpendiculares; TNE, trasplante no elegible; aminotransferasa; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; monóxido; ECOG PS, Oncológico Cooperativo de la Costa Este LF3B, linfoma folicular grado 3B; HCT-CI, lactato deshidrogenasa; FEVI, ventricular izquierdo no especificado de otra manera; SPD, suma del producto de LSN, límite superior de la normalidad. Todos los porcentajes se redondean a números enteros excepto los que terminan en ,5. [a]Criterios TNE evaluados en la selección. bRecaída versus respuesta versus mejor respuesta de respuesta parcial, el tratamiento de trasplante estable con intención curativa resistente se definió como la mejor respuesta de la enfermedad completa o progresiva a la última enfermedad sistémica o	

Tabla E34C. Acontecimientos adversos durante el tratamiento			
	Sujetos tratados con linfocitos T CAR+ (N=13)		
	Cualquier grado	**Grado 3-4**	**Grado 5**
Cualquier AADT, n (%)	12 (92)	8 (61,5)	0
AADT en ≥15 % de los sujetos,[a] n (%)			
Anemia	5 (38)	2 (15)	0
Hipotensión	4 (31)	0	0
Neutropenia	4 (31)	4 (31)	0
Trombocitopenia	4 (31)	3 (23)	0
SLC	3 (23)	0	0
Mareo	3 (23)	0	0
Fatiga	3 (23)	0	0
Insomnio	3 (23)	0	0
Leucopenia	3 (23)	2 (15)	0
Linfopenia	3 (23)	3 (23)	0

(continuación)

Tabla E34C. Acontecimientos adversos durante el tratamiento			
	Sujetos tratados con linfocitos T CAR+ (N=13)		
	Cualquier grado	Grado 3-4	Grado 5
Congestión nasal	3 (23)	0	0
Incontinencia anal	2 (15)	0	0
Tos	2 (15)	0	0
Caída	2 (15)	0	0
Hipertensión	2 (15)	1 (8)	0
Hipomagnasemia	2 (15)	0	0
Disminución del recuento de neutrófilos	2 (15)	2 (15)	0
Dolor en extremidad	2 (15)	0	0
Tos productiva	2 (15)	0	0
SLC, síndrome de liberación de citocinas; Los AADT, acontecimientos adversos emergentes del tratamiento. Todos los porcentajes se redondean a números enteros excepto los que terminan en ,5. [a]Los AADT se enumeran en orden descendente de frecuencia para el término preferido según la columna de cualquier grado.			

Entre los sujetos evaluados en este punto de tiempo, no se produjeron acontecimientos de SLC de grado 3-4, ningún sujeto experimentó AN y no hubo casos de síndrome de activación de macrófagos, síndrome de lisis tumoral o aparición de reacciones a la infusión (**Tabla E34D**).

Tabla E34D. Acontecimientos adversos de especial interés	
Acontecimiento, n (%)	**Sujetos tratados con linfocitos T CAR+ (N=13)**
SLC	
Grado 1-2	3 (23)
Grado 3-5	0
AN[a]	
Grado 1-2	0
Grado 3-5	0
Tocilizumab y corticosteroides para SLC[b]	2 (15)
Citopenia prolongada de grado ≥3 [c]	4 (31)
Infecciones, grado >_3	0
SLC, síndrome de liberación de citocinas; AN, acontecimientos neurológicos. [a]Los AN fueron acontecimientos relacionados con el tratamiento definidos por el investigador. [b]Se administraron tocilizumab y un corticosteroide para 2 acontecimientos de SLC grado 2 con hipotensión. [c]Las citopenias prolongadas incluyeron neutropenia, trombocitopenia o anemia no resuelta el día 29 del estudio según evaluaciones de laboratorio.	

Todos los sujetos de este estudio en este punto de tiempo cuya eficacia fue evaluada (12 sujetos) lograron una respuesta objetiva (100 % [12/12]) y seis sujetos (50 %) lograron una RC (**Tabla E34E**). Los resultados individuales para cada sujeto de este estudio en este momento se resumen en la **Tabla E34F.** Todos los 12 sujetos lograron una respuesta objetiva temprana el día 30, y siete de los 12 sujetos (58 %) mantuvieron respuestas duraderas 3 meses después de la infusión de linfocitos T CAR+. Un sujeto permaneció en RC durante 9 meses (270 días) y 1 sujeto permaneció en RC durante 6 meses (180 días) **(FIG. 56).** El tiempo hasta la concentración máxima (Tmáx) de los linfocitos T CAR en este estudio (11 [rango intercuartil (IQR): 11-15] días) fue similar al observado con la Tmáx de la composición de linfocitos T CAR observada en un estudio diferente (por ejemplo, descrito en los Ejemplos 1, 3, 6 y 13 anteriores) de 12 [IQR: 10 15] días.

Tabla E34E. Mejor respuesta global [a]	
Respuesta, n (%)	**Sujetos tratados con linfocitos T CAR+ (N=12)[b]**
TRO	12 (100)
RC	6 (50)
RP	6 (50)
CE	0
PE	0
RC, respuesta completa; TRO, tasa de respuesta objetiva; PE, progresión de la enfermedad; RP, respuesta parcial; CE, cáncer estable. [a]Las respuestas se calcularon en función de los pacientes con una ventana de finalización de la visita el día 29 que ocurrió en el punto de tiempo del análisis o antes. [b]En el momento del análisis, un paciente aún no tenía una evaluación de eficacia el día 29.	

Tabla E34F. Resultados individuales

Número de sujeto	Entorno de tratamiento	Criterios TNE cumplidos (valor)	Puntuación HCT-CI	Tumor carga LDH, UI/l[a]	Tumor carga SPD, $cm^{2,b}$	AA relacionados con composiciones de linfocitos T CAR+ (grado 3-4)[a]	SLC o AN (Grado e)	Mejor respuesta[C]
1	Paciente hospitalario	CrCl (55 ml/min)	1	200	10	Ninguno	0	RC
2	Paciente ambulatorio	Edad (71 años)	0	195	22	Ninguno	0	RC
3	Paciente ambulatorio	CrCl (59 ml/min)	3	355	27	Neutropenia	0	RP
4	Paciente hospitalario	Edad (71 años)	0	568	91	Neutropenia/ Trombocitopenia	0	RC
5	Paciente ambulatorio	Edad (72 años)	3	160	8	Leucopenia/ Neutropenia/ Linfopenia	0	RC
6	Paciente ambulatorio	Edad (72 años) DLCO (57 %)	3	201	5	Trombocitopenia Disminución del recuento de linfocitos Disminución del recuento de neutrófilos	0	RC
7	Paciente hospitalario	Edad (79 años) ECOG PS (2)	3	260	79	Ninguno	0	RP
8	Paciente hospitalario	CrCl (58 ml/min) FEVI (45 %)	3	341	191	Anemia	0	RP
9	Paciente ambulatorio	Edad (77 años)	0	201	89	Ninguno	0	RP
10	Paciente ambulatorio	Edad (80 años)	6	332	21	Ninguno	0	RC
11	Paciente hospitalario	Edad (75 años)	1	1567	118	Ninguno	2	RP
12	Paciente hospitalario	Edad (72 años) ECOGPS (2) CrCl (53 ml/min)	9	562	18	Ninguno	2[d]	N/A [e]
13	Paciente hospitalario	ECOG PS (2)	N/A	218	11	Ninguno	1	RP

AA, acontecimiento adverso; RC, respuesta completa; CrCl, aclaramiento de creatinina; SLC, síndrome de liberación de citocinas; DLCO, capacidad de difusión de los pulmones de monóxido de carbono; ECOG PS, Estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este; HCT-CI, índice de comorbilidad del trasplante de células hematopoyéticas; LDH, lactato deshidrogenasa; FEVI fracción de eyección del ventrículo izquierdo; N/A, No aplicable; AN, acontecimientos neurológicos; PE, progresión de la enfermedad; RP, respuesta parcial; SPD, suma del producto de diámetros perpendiculares; TNE, no elegible para trasplante.
[a]Alta carga tumoral basada en LDH >500 UI/l. [b]Carga tumoral elevada basada en SPD >50 cm2. [c]Datos procedentes de captura electrónica de datos. [d]La duración del seguimiento de los AA fue <28 días. [e]En el punto de tiempo del análisis, este paciente aún no tenía una evaluación de eficacia el día 29.

Los resultados mostraron que los AADT de grado 3 o 4 más comunes fueron citopenias, ningún sujeto presentó SLC de grado 3-4, ningún sujeto presentó acontecimientos neurológicos y ningún sujeto tuvo AADT de grado 5. Los resultados también mostraron que la administración de composiciones de linfocitos T que expresan CAR anti-CD 19 dio como resultado respuestas duraderas, incluyendo RC. En este estudio, todos los sujetos (100 %) lograron una respuesta objetiva temprana el día 30, seis pacientes (50 %) lograron una RC, siete pacientes (58 %) mantuvieron respuestas duraderas 3 meses después de la infusión de linfocitos T que expresan CAR, dos pacientes tienen RC en curso durante 6 y 9 meses, respectivamente. Estos resultados son consistentes con una observación de que los linfocitos T que expresan CAR anti-CD 19 se toleran con éxito como terapia de segunda línea en sujetos con linfoma

no Hodgkin (LNH) de linfocitos B agresivo R/R que no eran elegibles para alta dosis de quimioterapia y TCMH.

Ejemplo 15 Administración de células que expresan CAR anti-CD19 para el tratamiento de linfoma no Hodgkin (LNH) de linfocitos B recurrente y resistente a tratamiento (R/R) en el entorno ambulatorio

Las composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas que contenían linfocitos T CD4+ y CD8+ autólogos que expresaban un receptor de antígeno quimérico (CAR) específico para CD19 empleadas en los estudios descritos en los Ejemplos 1, 3 y 6 anteriores, fueron administrados en un entorno ambulatorio, como terapia de tercera línea o posterior.

Los sujetos elegibles para el tratamiento incluyeron sujetos adultos con linfoma no Hodgkin (LNH) de linfocitos B grandes recurrente/resistente a tratamiento (linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) no especificado de otra manera (NOS); incluyendo LDLBG transformado confirmado por biopsia de linfoma indolente, linfoma de alto grado con MYC y BCL2 y/o BCL6 [linfoma de doble/triple impacto], linfoma de linfocitos B mediastínico primario (LLBMP) y linfoma folicular Grado 3B). Los sujetos habían sido tratados previamente con antraciclina y rituximab (u otro agente dirigido a CD20) y habían tenido enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de al menos 2 líneas de terapia sistémica para LDLBG o después de un autotrasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH). Los sujetos elegibles para el tratamiento también incluyeron aquellos con enfermedad positiva para la tomografía por emisión de positrones (TEP) según la clasificación de Lugano, un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG) de 0 o 1, sujetos con adecuada médula ósea, función orgánica renal, hepática, pulmonar y cardíaca, acceso vascular adecuado para el procedimiento de leucocitaféresis y/o sujetos que han recibido terapia previa dirigida a CD19 y que tienen un linfoma CD19 positivo confirmado en una biopsia desde que completaron la terapia dirigida a CD19 anterior.

Los sujetos se sometieron a leucocitaféresis para aislar células mononucleares de sangre periférica (PBMC) para la producción del CAR dirigido a CD19. Durante la producción de células que expresan el CAR dirigido a CD19, a los sujetos se les permitió recibir quimioterapia en dosis bajas para el control de la enfermedad. Tras la fabricación exitosa de una composición de linfocitos T que expresan CAR anti-CD19, los sujetos recibieron quimioterapia con reducción de linfocitos, seguida de una dosis de 100 × 10^6 linfocitos T que expresan CAR administrados mediante inyección intravenosa (IV).

Ejemplo 16 Evaluación de los resultados de seguridad y respuesta para sujetos ambulatorios con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento después de la administración de células que expresan CAR anti-CD19

Los resultados de respuesta y seguridad se evaluaron en grupos de sujetos con linfoma no Hodgkin (LNH) recurrente y resistente a tratamiento (R/R), tal como linfoma de linfocitos B grandes, tratado en un entorno ambulatorio a partir de estudios clínicos como se describe en los Ejemplos 1, 3, 6, 13, 14 y 15 anteriores.

Como se describe en los Ejemplos 1, 3, 6 y 13 anteriores, una composición definida de células CD4+ y CD8+ que expresan un CAR anti-CD 19 logró altas tasas de respuesta como terapia de tercera línea o posterior en sujetos con LNH de linfocitos B grandes R/R. Con menos de la mitad de los sujetos desarrollando síndrome de liberación de citocinas (SLC) y/o acontecimientos neurológicos (AN) (por ejemplo, en el 47 % de los sujetos), baja incidencia de acontecimientos de grado 3 o superior (2 % para SLC y 10 % para AN, respectivamente) y en vista del retraso en la aparición (mediana de 5 y 10 días, respectivamente) se permitió el tratamiento ambulatorio, con hospitalización al primer signo de fiebre o síntomas neurológicos.

Ejemplo 16.A

Un total de 37 sujetos, de diferentes estudios, a quienes se les administraron linfocitos T CAR+ en un entorno ambulatorio se analizaron en este punto de tiempo del análisis. En los estudios, el tratamiento ambulatorio se llevó a cabo en un entorno no universitario o en un centro médico universitario y no universitario, entre tres grupos de sujetos tratados. Los grupos se resumen en la **Tabla E35.**

Tabla E35. Diseños de estudio

Tipo de sitio(s) de estudio	**Nivel(es) de dosis**	**Criterio de elegibilidad**	**Objetivos**
Grupo A Centros universitarios y no universitarios	50 x 10^6 linfocitos T CAR+ 100 x 10^6 linfocitos T CAR+ 150 x 10^6 linfocitos T CAR+	LNH de linfocitos B grandes después de ≥2 líneas de terapia anterior (cohorte de LDLBG)	Seguridad Eficacia

(continuación)

Tabla E35. Diseños de estudio			
Tipo de sitio(s) de estudio	**Nivel(es) de dosis**	**Criterio de elegibilidad**	**Objetivos**
Grupo B Centros no universitarios	100 x 10^6 linfocitos T CAR+	LNH de linfocitos B grandes después de ≥2 líneas de terapia anterior	Seguridad Eficacia
Grupo C Centros universitarios y no universitarios	100 x 10^6 linfocitos T CAR+	LNH de linfocitos B grandes después de solo 1 línea de terapia anterior No elegible para quimioterapia de dosis alta ni para TCMH Cumplir ≥1 criterio TNE	Eficacia Seguridad
CY, ciclofosfamida; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes; FLU, fludarabina; TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LNH, linfoma no Hodgkin; TEP, tomografía de emisión de positrones; TNE, no elegible para trasplante.			

Un grupo (Grupo A) incluyó un subconjunto de 25 sujetos con LNH de linfocitos B grandes R/R tratados en un entorno ambulatorio generalmente como se describe en los Ejemplos 1, 3, 6 y 13. Los sujetos habían recibido composiciones de linfocitos T CAR$^+$ en DL1 de 50 × 10^6, DL2 de 100 × 10^6 o DL3 de 150 × 10^6 células CAR+, como terapia de tercera línea o posterior (los sujetos tenían 2 o más líneas de terapia anteriores y un ECOG PS de 1 o menos). Los sujetos de la cohorte de linfoma de células del manto (LCM) fueron tratados con ≥1 línea de terapia anterior.

Otro grupo (Grupo B) incluyó 7 sujetos de un estudio en el que se administraron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ como terapia de tercera línea o posterior, generalmente como se describe en el Ejemplo 15. Los sujetos habían sido tratados con antraciclina y rituximab (u otro agente dirigido a CD20) y tenían enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de al menos 2 líneas de terapia sistémica para LDLBG o después de TCMH autólogo.

Otro grupo (Grupo C) incluyó 5 sujetos de un estudio en el que se administraron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ como terapia de segunda línea para sujetos no elegibles para trasplante (TNE). Se consideró que los sujetos no eran elegibles para quimioterapia de dosis alta seguida de TCMH si cumplían al menos uno de los criterios TNE descritos en el Ejemplo 14, mientras sigue cumpliendo los criterios para la terapia con linfocitos T CAR (Edad ≥70 años, ECOG PS de 2, función pulmonar deteriorada (capacidad de difusión de los pulmones para el monóxido de carbono (DLCO) ≤60 % ajustada para la concentración de hemoglobina (DLCO ≤60 % pero saturación de oxígeno ≥92 % en aire ambiente y Criterios de terminología común para acontecimientos adversos del Instituto Nacional del Cáncer [NCI CTCAE] ≤1 disnea), deterioro de la función cardíaca (fracción de eyección del ventrículo izquierdo ≥40 % a <50 %), deterioro de la función renal (aclaramiento de creatinina >30 y <60 ml/min) y deterioro de la función hepática (aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa >2 y ≤5 × límite superior de la normalidad). Los sujetos habían recibido solo 1 línea previa de inmunoquimioterapia que contenía una antraciclina y un agente dirigido a CD20 (p. ej., R-CHOP).

En los estudios, los sujetos elegibles tenían LNH de linfocitos B grandes R/R, función orgánica adecuada y quimioinmunoterapia sistémica previa (≥2 líneas de terapia anteriores y ECOG PS ≤1 o 1 línea de terapia anterior y TNE considerada para autotrasplante de células madre hematopoyéticas según ECOG PS, función de los órganos y/o edad). Después de la reducción de linfocitos con fludarabina/ciclofosfamida como se describe en los ejemplos anteriores, se administraron composiciones de linfocitos T CAR$^+$ en 1 de 3 niveles de dosis (DL1 de 50 × 10^6, DL2 de 100×10^6 o DL3 de 150×10^6 células CAR+) para los 25 del Grupo A, y en DL2 (100 × 10^6 linfocitos T CAR+) en los Grupos B y C descritos anteriormente. Para el tratamiento ambulatorio, los sujetos tuvieron un cuidador durante los 30 días posteriores a la infusión de linfocitos T que expresan CAR, recibieron educación sobre monitoreo de seguridad (reconociendo acontecimientos adversos críticos; ej., fiebre) y se encontraban dentro de 1 hora de viaje hasta el lugar de atención. Todos los sitios para tratamiento ambulatorio tenían un equipo multidisciplinario de terapia con linfocitos T CAR y procedimientos operativos estándar para la administración ambulatoria y el monitoreo de acontecimientos adversos. El síndrome de liberación de citocinas (SLC; criterios de Lee et al. (2014)) y acontecimientos neurológicos (AN; definidos como relacionado con la administración de linfocitos T que expresan CAR; criterios CTCAE) fueron tratados en el hospital.

En el momento del análisis, 37 sujetos de todos los estudios habían recibido linfocitos T CAR+ anti-CD19 el día 1 del estudio y fueron monitoreados de forma ambulatoria, incluidos sujetos de 65 años o más y aquellos con alta carga tumoral. Características del paciente, resultados de seguridad y respuesta se muestran en la **Tabla E35.1** a continuación. Los AA de grado ≥3 más frecuentes surgidos durante el tratamiento fueron citopenias (neutropenia 43 %, anemia 30 %, trombocitopenia 14 %). Dieciséis sujetos tenían cualquier grado de SLC y 12 tenían cualquier grado de AN (19 sujetos tenían SLC y/o AN). El SLC y/o AN graves se produjeron sólo en 2 sujetos y fueron reversibles (véase la **Tabla E35.1**). Tres sujetos recibieron tocilizumab y corticosteroides y 4 sujetos recibieron corticosteroides solos para SLC y/o AN. Ningún sujeto recibió tocilizumab solo. Veintidós de los 37 sujetos (59 %) requirieron hospitalización en algún momento; todos los sujetos que requirieron hospitalización eran del Grupo A o del Grupo B. Tres de esos sujetos (8 %) fueron admitidos el día 3 del estudio o antes, todos por SLC; 1 sujeto

requirió atención a nivel de UCI (duración de la estancia, 3 días). La mediana (intervalo) de tiempo hasta la hospitalización posterior al tratamiento fue de 5 (2-22) días y la mediana (intervalo) de duración de la estadía fue de 6 (2-23) días. Quince (41 %) de los 37 sujetos, incluyendo los 5 sujetos del Grupo C, no fueron ingresados en el hospital en los primeros 29 días posteriores a la infusión de células que expresan CAR anti-CD19.

En los 3 grupos, la mayoría de los sujetos lograron una respuesta objetiva, incluyendo RC (véase la **Tabla E35.1).** La mediana de tiempo hasta alcanzar el pico de expansión de linfocitos T CAR+ en cada estudio fue de 10 días (intervalo: 3-21 en Grupo A; 7-10 en Grupo B; 7-10 en Grupo C).

Tabla E35.1 Características del sujeto, resultados de seguridad y respuesta para sujetos tratados en un entorno ambulatorio

	Todos los sujetos tratados como pacientes ambulatorios (n=37)	**Grupo C no elegible para trasplante de 2ª línea (TNE), Ejemplo 14 (N=5)**	**Grupo B terapia de 3ª línea o posterior, Ejemplo 15 (N=7)**	**Grupo A Ejemplos 1, 3, 6, 7 y 13 (N=25)**
Características del sujeto				
Edad, mediana (intervalo) de años	62 (24-82)	72 (69-77)	64 (49-78)	60 (24-82)
≥65, n (%)	15 (41)	5 (100)	3 (43)	7 (28)
Hombre, n (%)	21 (57)	3 (60)	3 (43)	15 (60)
Histología, n (%)				
LDLBG NOS	24 (65)	4 (80)	6 (86)	14956)
LLBAG	3 (8)	1 (20)	0	2 (8)
LDLBG transformado	6 (16)	0	1 (14)	5 (920)
LLBMP	4 (11)	0	0	4 (16)
Líneas de terapia anteriores, mediana (intervalo)	2 (1-5)	1 (1-1)	2 (2-4)	2 (1-5)
Recurrente, [a] n (%)	13 (35)	4 (80)	2 (29)	7 (28)
Resistente a tratamiento, [a] n (%)	24 (65)	1 (20)	5 (71)	18 (72)
LDH ≥500 U/l, n (%)	2 (5)	0	1 (14)	1 (4)
SPD ≥50 cm^2, n (%)	10 (27)	9 (20)	3 (43)	6 (24)
Seguridad				
Cualquier AADT de grado ≥3, n (%)	27 (73)	3 (60)	7 (100)	17 (68)
AADT de grado 5, n (%)	0	0	0	0
AADT de especial interés, n (%)				
SLC, cualquier grado	16 (43)	0	4 (57)	12 (48)
SLC, grado >_3	1 (3)	0	0	1 (4)
AN, cualquier grado	12 (32)	0	1 (14)	11 (44)
AN, grado >_3	2 (5)	0	0	2 (8)
SLC y/o AN, cualquier grado	19 (51)	0	4 (57)	15 (60)
SLC y/o AN, grado ≥3	2 (5)	0	0	2 (8)
Respuesta	N=34	N= 5	N=6	N=23
TRO, n (%)	26 (76)	5 (100)	4 (67)	17 (74)
RC, n (%)	14 (41)	2 (40)	2 (33)	10 (43)
RP, n (%)	12 (35)	3 (60)	2 (33)	7 (30)

Ejemplo 16.B

En un punto de tiempo diferente en el mismo estudio descrito anteriormente en el Ejemplo 16.A, un total de 44 sujetos, de diferentes estudios, a quienes se les administraron linfocitos T CAR+ en un entorno ambulatorio se analizaron en este punto de tiempo del análisis. En los estudios, el tratamiento ambulatorio se llevó a cabo en un entorno no universitario o en un centro médico universitario y no universitario, entre tres grupos de sujetos tratados. Los grupos ambulatorios incluyeron: Grupo A con un subconjunto de 25 sujetos de un total de 286 en el estudio (9 %), Grupo B incluyó un subconjunto de 13 sujetos de un total de 27 en el estudio (48 %), y el Grupo C incluyó un subconjunto de 6 sujetos de un total de 13 en el estudio (46 %). La eficacia se evaluó mediante tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada según los criterios de Lugano de 2014 (Cheson BD et al. J Clin

Oncol. 2104;32:3059-3067) según la evaluación del investigador 1, 3, 6, 9, 12, 18 y 24 meses después de la infusión de linfocitos T CAR+. Los AA se clasificaron utilizando NCI CTCAE, versión 4.03, excepto SLC, que fue calificado utilizando los criterios de Lee et al. (Lee DW et al. Blood. 2014:188-195). Los AN fueron AA según la definición del investigador que se consideraron relacionados con las composiciones de linfocitos T CAR+ según la evaluación del investigador. Los AADT se definieron como aquellos que ocurren dentro de los 90 días posteriores a la administración de la composición de linfocitos T CAR+. Los parámetros farmacocinéticos se determinaron mediante citometría de flujo. Se incluyeron en el análisis todos los sujetos con ≥30 días de seguimiento.

Los requisitos de tratamiento ambulatorio incluyeron educación sobre monitoreo de seguridad para reconocer AA críticos (fiebre, síntomas de SLC y AN) para los cuales buscar atención médica, la presencia de un cuidador durante 30 días después de la infusión de la composición de linfocitos T CAR+ y permanecer dentro de un tiempo de viaje de 1 hora al lugar de atención durante 30 días después de la infusión de la composición de linfocitos T CAR+. Los requisitos del sitio del estudio incluyeron equipos multidisciplinarios de terapia con linfocitos T CAR en el entorno ambulatorio y hospitalario. Logística y flujo de comunicación de la atención al paciente con linfocitos T CAR entre instalaciones para pacientes ambulatorios y hospitalarios documentados en el plan de preparación del sitio, disponible las 24 horas del día, los 7 días de la semana, coordinación de la atención entre equipos médicos ambulatorios y hospitalarios, procedimiento operativo estándar para el monitoreo de AA para pacientes ambulatorios y cobertura médica de guardia disponible las 24 horas del día, los 7 días de la semana. Las hospitalizaciones requieren tratamiento de SLC, AN y AA graves.

Los sujetos se consideraron "pacientes ambulatorios" si recibieron una infusión de linfocitos T CAR+ en el entorno ambulatorio o si el paciente abandonó la clínica o fue dado de alta del hospital al final del período de observación el día de la infusión.

Los datos demográficos iniciales y las características del sujeto se muestran en la **Tabla E35A,** y se describe un resumen de seguridad en la **Tabla E35B**. Los acontecimientos adversos de especial interés se informan en la **Tabla E35C**, y el grado de AADT informados en ≥20 % de los sujetos se describe en la **Tabla E35D**. La opción de tratamiento ambulatorio para el Grupo A se agregó durante el estudio, y el tratamiento ambulatorio estuvo disponible desde el comienzo del estudio para los Grupos B y C. En general, el 9 % de los sujetos (25/286) fueron tratados de forma ambulatoria en el estudio descrito en los Ejemplos 1, 3, 6 y 13 (Grupo A), el 48 % (13/27) para el estudio del Ejemplo 15 (Grupo B) y el 46 % (6/13) para el estudio del Ejemplo 14 (Grupo C).

Tabla E35A. Datos demográficos de referencia y características del sujeto

	Todos pacientes ambulatorios (n=44)	**Grupo A (n = 25)**	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
Edad, mediana (intervalo), años ≥65 años, n (%)	62 (24-82) 18 (41)	62 (24-82) 7 (28)	62 (50-78) 5 (38)	72 (69-80) 6 (100)
Hombre, n (%)	27 (61)	15 (60)	8 (62)	4 (67)
Histología, n (%) LDLBG NOS LDLBG transformado a partir de histologías indolentes LLBAG LLBMP LF3B	 27 (61) 9 (20) 3 (7) 4 (9) 1 (2)	 14 (56) 5 (20) 2 (8) 4 (16) 0	 9 (69) 4 (31) 0 0 0	 4 (67) 0 1 (17) 0 1 (17)
ECOG PS de 0-1/2 en la selección, n (%)	44 (100)/0	25(100)/0	13(100)/0	6(100)/0
Criterios TNE,a n (%) Edad >_70 años ECOG PS de 2 DLCO≤60 % FEVI <50 % CrCl <60 ml/min AST/ALT >2 × LSN	NA	NA	NA	 4 (67) 0 1 (17) 0 9 (17) 0
Líneas de terapia anteriores, mediana (intervalo)	2 (1-5)	2 (1-5)	3(2-5)b	1(1-1)
Recibió un TCMH previo, n (%)	13 (30)	9 (36)	4 (31)	NA
Resistente a quimioterapia,c n (%)	28 (64)	16 (64)	10 (77)	2 (33)
Sensible a quimioterapia,c n (%)	16 (36)	9 (36)	3 (23)	4 (67)
LDH ≥500 U/l, n (%)	6 (14)	1 (4)	5 (38)	0

(continuación)

Tabla E35A. Datos demográficos de referencia y características del sujeto				
	Todos pacientes ambulatorios (n=44)	**Grupo A (n = 25)**	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
SPD ≥50 cm2, N/n (%)	43/12 (28)	25/6 (24)	12/5 (42)	6/1 (17)
PCR ≥20 mg/ml, n (%)	17 (39)	10 (40)	7 (54)	0

[a]Criterios TNE evaluados en la selección.
[b]Basado en 12 pacientes; faltaban datos para 1 paciente.
[c]El estado era resistente a quimioterapia si el paciente alcanzó CE o PE hasta el último régimen que contenía quimioterapia o recayó <12 meses después
de auto-TCMH; de lo contrario, el estado era sensible a quimioterapia.
ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; CrCl, aclaramiento de creatinina; PCR, proteína C reactiva; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes;
DLCO, capacidad de difusión de los pulmones de monóxido de carbono; ECOG PS, Estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este; FL3B, linfoma folicular Grado 3B; LLBAG, linfoma de linfocitos B de alto grado; TCMH, trasplante de células madre hematopoyéticas; LDH, lactato deshidrogenasa;
FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; NA, No aplicable; NOS, no especificado de otra manera; LLBMP, linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario; SPD, suma del producto de diámetros perpendiculares; TNE, trasplante no elegible; LSN, límite superior de la normalidad.

Tabla E35B. Resumen de seguridad				
	Todos pacientes ambulatorios (n=44)	**Grupo A (n = 25)**	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
Cualquier TEAE, n (%)	42 (95)	25 (100)	12 (92)	5 (83)
Los AADT, grado >_3	31 (70)	17 (68)	11 (85)	3 (50)
AADT, grado 5	0	0	0	0
AAG	24 (55)	18 (72)	6 (46)	0

AAG, acontecimientos adversos graves; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.

Tabla E35C. Resumen de acontecimientos adversos de especial interés				
	Todos pacientes ambulatorios (n=44)	**Grupo A (n = 25)**	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
SLC y/o AN, n (%) Cualquier grado Grado ≥3	 25 (57) 3 (7)	 15 (60) 2 (8)	 7 (35) 0	 0 0
SLC Cualquier grado, n (%) Grado >_3, n (%) Tiempo hasta aparición, mediana (intervalo), días Tiempo hasta la resolución, mediana (intervalo), días	 17 (39) 1 (2) 5 (2-9) 6 (1-16)	 12 (48) 1 (4) 5 (2-8) 6 (4-16)	 5 (38) 0 5 (2-9) 4 (1-9)	 0 0 NA NA
AN Cualquier grado, n (%) Grado >_3, n (%) Tiempo hasta aparición, mediana (intervalo), días Tiempo hasta la resolución, mediana (intervalo), días	 13 (30) 2 (5) 8 (3-22) 16 (1-52)	 11 (44) 2 (8) 8 (3-22) 18 (2-52)	 2 (15) 0 8,5 (8-9) 2 (1-3)	 0 0 NA NA
Tocilizumab y/o corticosteroide para SLC, n (%)	5 (11)	5 (20)	2 (15)	0
Tocilizumab solo Tocilizumab y corticosteroides Corticosteroides solo Corticosteroides para AN, n (%)	0 3 (7) 2 (5) 4 (9)	0 1 (4) 4 (16) 4 (16)	0 2 (15) 0 0	0 0 0 0
Infección, grado ≥3, n (%)	7 (16)	6 (24)	1 (8)	0
Citopenia prolongada grado ≥3,a n (%)	9 (20)	3 (12)	5 (38)	1 (17)

a Las citopenias prolongadas incluyeron neutropenia, trombocitopenia o anemia no resuelta el día 29 del estudio según evaluaciones de laboratorio.
SLC, síndrome de liberación de citocinas; NA, No aplicable; AN, acontecimiento neurológico; AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.

Tabla E35D. AADT de cualquier grado informados en ≥20 % de todos los sujetos				
	Todos pacientes ambulatorios (n=44)	**Grupo A (n = 25)**	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
Fatiga	25 (57)	17 (68)	6 (46)	2 (33)
Neutropenia	20 (45)	11 (44)	7 (54)	2 (33)
Apetito disminuido	19 (43)	14 (56)	5 (38)	0
Síndrome de liberación de citocinas	17 (39)	12 (48)	5 (38)	0
Anemia	16 (36)	10 (40)	5 (38)	1 (17)
Estreñimiento	15 (34)	9 (36)	6 (46)	0
Náuseas	15 (34)	12 (48)	3 (23)	0
Cefalea	14 (32)	10 (40)	4 (31)	0
Tos	13 (30)	10 (40)	2 (15)	1 (17)
Mareo	13 (30)	10 (40)	1 (8)	2 (33)
Hipotensión	13 (30)	11 (44)	2 (15)	0
Trombocitopenia	11 (25)	3 (12)	6 (46)	2 (33)
Vómitos	10 (23)	9 (36)	1 (8)	0
Dolor de espalda	9 (20)	6 (24)	2 (15)	1 (17)
Diarrea	9 (20)	7 (28)	2 (15)	0
Hipomagnesemia	9 (20)	9 (36)	0	0
Temblor	9 (20)	6 (24)	3 (23)	0
AADT, acontecimientos adversos durante el tratamiento.				

Se describe un resumen de hospitalizaciones para pacientes ambulatorios **(Tabla E35E)** y para pacientes hospitalarios **(Tabla E35F)**. La mediana de días de hospitalización por sujeto para pacientes hospitalarios en todos los participantes del Grupo A fue de 15,0 días (intervalo, 4-98; n=244) y para pacientes ambulatorios de todos los estudios fue de 6,0 días (intervalo, 2-23; n=25), con una reducción del 60 % de las estancias hospitalarias. Para pacientes ambulatorios del Grupo A, la mediana del tiempo de hospitalización fue el día 5 del estudio (intervalo 3-22), con 6 (24 %) de los sujetos hospitalizados el día 4 del estudio o antes y 1 (4 %) requirió ingreso en la UCI. Entre los 269 sujetos tratados en el Grupo A, 19 (7 %) requirieron ingreso en UCI para el tratamiento de la toxicidad, donde 12 (4 %) fueron para el tratamiento de SLC y/o AN y 7 (3 %) fueron para el tratamiento de otros AA. Se evaluó la eficacia **(Tabla E35G)** y farmacocinética **(Tabla E35H)** en todos los subgrupos en el entorno ambulatorio. Los pacientes de la cohorte de LCM del estudio descrito en los Ejemplos 1, 3, 6 y 13 (también descritos en el Ejemplo 2) también fueron tratados en el entorno ambulatorio.

Tabla E35E. Resumen de hospitalizaciones para pacientes ambulatorios				
	Todos pacientes ambulatorios (n=44)	**Grupo A (n = 25)**	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
Se requiere hospitalización en cualquier momento después de la infusión de linfocitos T CAR, n (%)	24 (55)	18 (72)	6 (46)	0
Tiempo hasta la hospitalización después de la infusión de linfocitos T CAR, mediana (intervalo), días	5 (2-22)	5 (3-22)	4,5 (2-9)	NA
Hospitalización el día 4 del estudio o antes, n (%)	9 (20)	6 (24)	3 (23)	0
Duración de la estancia hospitalaria, mediana (intervalo), días	6,5 (1-23)	6 (2-23)	9 (4-16)	NA
Se requiere atención a nivel de UCI, n (%)	2 (5)	1 (4)	1 (8)	0
Duración de la estancia en la UCI, mediana (intervalo), días	4 (3-5)	3 (3-3)	5 (5-5)	NA
Razones de la hospitalización inicial, n (%)				NA
SLC y/o AN	14 (32)	10 (40)	4 (31)	
SLC	13 (30)	9 (36)	4 (31)	
AN	1 (2)	1 (4)	0	
Otros	10 (23)	8 (32)	2 (15)	
SLC, síndrome de liberación de citocinas; UCI, unidad de cuidados intensivos; NA, No aplicable; AN, acontecimiento neurológico.				

Tabla E35F. Resumen de hospitalizaciones para pacientes hospitalarios			
	Grupo A (n = 25)	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n=6)[a]**
Duración de la estancia hospitalaria inicial durante la administración de linfocitos T CAR, días			
Mediana	15	9	7
Q1, Q3	11, 20,5	5, 11,5	4, 10
Intervalo	4-98	2-21	3-21
Duración de la estancia hospitalaria inicial desde el momento de la administración de linfocitos T CAR, días			
Mediana	11	8	6
Q1, Q3	8, 15	5, 11,5	4, 9
Intervalo	3-88	2-21	3-15
Admisiones en UCI durante la hospitalización inicial para la administración de linfocitos T CAR			
Número (%)	18 (7)	0	0
Mediana de días	7,5	NA	NA
Q1, Q3 días	3, 18	NA	NA
Días de intervalo	1-56	NA	NA
Razones de la hospitalización inicial, n (%)			
Profilaxis para la administración de linfocitos T CAR	225 (92)	6 (86)	5 (83)
Acontecimiento Adverso	14 (6)	1 (14)	0
Otros	5 (2)	0	1 (17)
[a]Un total de 7 pacientes se trataron como pacientes hospitalarios; los datos de hospitalización no estaban disponibles para 1 paciente en el punto de tiempo del análisis UCI, unidad de cuidados intensivos; NA, No aplicable; Q, cuartil.			

Tabla E35G. Resumen de eficacia				
	Todos pacientes ambulatorios (n=44)	**Grupo A (n = 25)**	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
Respuesta, n (%)				
TRO	35 (80)	20 (80)	9 (69)	6 (100)
RC	24 (55)	14 (56)	6 (46)	4 (67)
RP	11 (25)	6 (24)	3 (23)	2 (33)
CE	3 (7)	2 (8)	1 (8)	0
PE	5 (11)	3 (12)	2 (15)	0
No disponible	1 (2)	0	1 (8)	0
RC, respuesta completa; TRO, tasa de respuesta objetiva; PE, progresión de la enfermedad; RP, respuesta parcial; CE, cáncer estable.				

Tabla E35H. Resumen de datos farmacocinéticos			
	Grupo A (n = 25)	**Grupo B (n = 13)**	**Grupo C (n = 6)**
Tmáx, mediana (RIQ)	10,0 (10,0, 14,0)	10 (7,0, 10,0)	10,0 (10,0, 10,0)
Cmáx, mediana (RIQ)	62,9 (24,3, 151,8)	29,8 (14,7, 117,5)	135,1 (64,5, 185,0)
ABC, mediana (RIQ)	474,8 (169,8, 1208,0)	287,0 (128,6, 923,6)	741,9 (318,7, 1135,1)
ABC, área bajo la curva de concentración-tiempo; Cmáx, concentración máxima; RIQ, rango intercuartílico; Tmáx, tiempo hasta la concentración máxima.			

Los resultados demuestran que un subconjunto de sujetos con LNH de linfocitos B grandes R/R fueron tratados con éxito con linfocitos T CAR+ anti-CD 19 y monitoreados para detectar toxicidad relacionada con los linfocitos T CAR en el entorno ambulatorio, incluidos sujetos de edad avanzada y sujetos con alta carga tumoral. Los resultados, incluyendo el perfil de seguridad, incluyendo las bajas tasas de SLC y AN graves y de todos los grados y su aparición tardía, respaldan la administración ambulatoria para pacientes con LNH de linfocitos B R/R tratados con una composición que contiene células que expresan CAR anti-CD19. Los resultados muestran que la administración ambulatoria se ha implementado con éxito en múltiples estudios clínicos en una variedad de sitios clínicos (universitarios/no universitarios; entidad dual/única) con acontecimientos adversos tratados de manera segura por un equipo multidisciplinario de terapia con linfocitos T CAR, y educación adecuada del paciente y procedimientos de monitoreo ambulatorio, sin aumento de toxicidades graves, como SLC o AN graves. Los resultados también muestran, en una población diversa de pacientes (ancianos, comorbilidades, alta carga tumoral), que SLC y AN graves ocurrieron con baja incidencia y fueron reversibles. Los resultados mostraron que SLC y AN graves ocurrieron con baja incidencia. El número de hospitalizaciones tempranas fue bajo, y el 41 % de los sujetos no requirieron hospitalización en el primer mes después de la infusión de linfocitos T CAR+ anti-CD 19, y se requirió atención a nivel de UCI en un porcentaje muy bajo de sujetos (5 %). La mayoría de los sujetos lograron una

respuesta objetiva en el primer punto de tiempo (65 %) y en el segundo punto de tiempo (80 %) evaluados en este estudio.

Ejemplo 17 Evaluación adicional de biomarcadores mediante inmunofluorescencia (IF) y análisis de expresión génica en biopsias de tumores previas y posteriores a la administración de sujetos para la administración de células que expresan CAR anti-CD19

La expresión de diversos biomarcadores se evaluó mediante inmunofluorescencia múltiple (IF) y análisis de expresión génica utilizando perfiles de ARN, en biopsias de tumores recogidas de sujetos antes y/o después de la administración de linfocitos T que expresan CAR, en un análisis posterior de una evaluación similar descrita en el Ejemplo 5 anterior.

A. Muestras de biopsia de tumores

Se recogieron biopsias de tumores de sujetos seleccionados con linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) recurrente o resistente a tratamiento (R/R) del estudio clínico descrito en los Ejemplos 1, 3, 6 y 13 anteriores, que recibieron tratamiento con composiciones de linfocitos T CAR$^+$ terapéuticas dirigidas a anti-CD 19, obtenidas al inicio antes del tratamiento y aproximadamente 11 días después de la administración (D11 después del tratamiento).

B. Evaluación de marcadores celulares

111 biopsias de 83 sujetos en total (n = 58 antes del tratamiento; n = 53 D11 posterior a la infusión; 28 pares coincidentes) se examinaron utilizando IF multiplexada.

Las biopsias se evaluaron utilizando los siguientes tres paneles IF para la detección: (1) marcadores de linaje de linfocitos B (CD19, CD20) y linfocitos T (CD4, CD8) y un anticuerpo específico para un receptor truncado (marcador sustituto) expresado por células CAR+, (2) biomarcadores asociados a la inmunosupresión (CD163, FoxP3, CD73, IDO1, PD-L1) y (3) biomarcadores asociados a la función de las células inmunitarias (CD3, Ki67, GZMB, PD-1) y un anticuerpo específico para el receptor truncado. Se utilizó un anticuerpo marcado con fluorescencia específico para el receptor truncado para identificar linfocitos T que expresan CAR dentro de las biopsias de tumores, generalmente como se describe en el Ejemplo 5.B anterior.

Los sujetos fueron evaluados para determinar los resultados de respuesta y seguridad, incluso mediante la evaluación de la carga tumoral en diversos puntos de tiempo después de la administración de los linfocitos T CAR$^+$, incluso 3 meses después de la administración, y determinar si el sujeto tenía progresión de la enfermedad (PE), cáncer estable (CE), respuesta parcial (RP) o respuesta completa (RC). Se examinó la posible asociación entre las diferencias en las densidades de marcadores para los sujetos con la mejor respuesta general (MRG) de respuesta completa (RC) y progresión de la enfermedad (PE). La expresión del biomarcador inicial y D11 se correlacionó con las respuestas tempranas aproximadamente 1 mes (M1) después de la infusión (PE n=16; RC n=42) y respuestas duraderas aproximadamente 9 meses (M9) después de la infusión (PE n=76; RC n=32; 55 sujetos evaluados tanto en M1 como en M9). Se evaluó la asociación entre las densidades de expresión del biomarcador inicial y D11, con distinción espacial entre regiones tumorales y peritumorales, y respuestas tempranas y duraderas. Todas las comparaciones se basaron en diferencias en las densidades medianas y la significación estadística se evaluó utilizando valores de P no corregidos evaluados mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon-Mann-Whitney (no apareada).

Se realizó un perfil de ARN tumoral en masa en un subconjunto superpuesto de 50 biopsias iniciales y 37 biopsias D11 posteriores al tratamiento (11 pares coincidentes).

C. Resultados

Las señales de expresión de biomarcadores en biopsias iniciales que se correlacionaban con una respuesta temprana diferían de aquellas que se correlacionaban con una respuesta completa duradera a los 9 meses (M9). Una presencia un 21 % mayor de linfocitos T PD-1$^+$ al inicio del estudio se encontró que estaba asociada a sujetos que lograron una RC temprana (en M1) en comparación con sujetos que tuvieron PE temprana (P = 0,007). Los sujetos con RC duradera (en M9) tuvieron niveles 39 % más bajos de macrófagos CD163$^+$ asociados al tumor al inicio del estudio (P = 0,019) y niveles 270 % más altos de células CD73$^+$ (P = 0,028) que los sujetos con PE en M9. La evaluación de los tumores D11 con biopsias posteriores al tratamiento mostró que los sujetos con RC temprana y duradera tenían niveles un 28 % más altos de linfocitos T receptor truncado$^+$ CD8$^+$ (indicativas de linfocitos T CAR+) (P = 0,022), y un 810 % más de células receptor truncado CD4$^+$ (linfocitos T no CAR$^+$) (P = 0,009), pero no células receptor truncado$^-$ CD8$^+$ (P = 0,28).

También se investigaron los cambios en la expresión del marcador entre las biopsias iniciales y D11 posteriores al tratamiento. Se encontró que los sujetos con RC duradera (en M9) tenían densidades de linfocitos B disminuidas (P = 0,029) y un aumento en la densidad de células CD8$^+$GZMB$^+$, Ki67$^+$y/o PD1$^+$ CAR$^+$ (P = 0,001), así como linfocitos T no CAR$^+$ (P = 0,017) en D11. También se observó que los sujetos con RC duradera a los 9 meses tenían un

aumento del 29 % en macrófagos CD163+ asociados al tumor en D11 después de la infusión en relación con el valor inicial (P = 0,033).

Las tendencias generales observadas en la evaluación del FI, que permite la evaluación espacial y células multimarcadas, estuvieron de acuerdo con las observadas en la secuenciación de ARN tumoral en volumen. Se observó una expresión inicial más baja de CD163 (P = 0,021) y una expresión más alta de CD73 (P = 0,054) en sujetos con RC duradera. Adicionalmente, la elevada expresión de CD3E, CD4 y la secuencia CAR (P <0,001) también se observaron en sujetos con RC duradera en D11, consistente con la mayor infiltración de tumor de linfocitos T endógenos y linfocitos T CAR+ en sujetos que respondieron al tratamiento. Los sujetos con una RC en M9 mostraron una mayor expresión de CD 163 medida en D11 en relación con la expresión de CD 163 al inicio del estudio (P <0,001).

D. Conclusión

Los resultados mostraron una mayor infiltración de linfocitos T CAR+ específicos del tumor tras el tratamiento inicial con células que expresan CAR anti-CD 19. Estos resultados son consistentes con la conclusión de que una mayor infiltración de linfocitos T CAR+ específicos del tumor tras el tratamiento inicial ayudaron a establecer una respuesta inmunitaria activa. Además, el reclutamiento de linfocitos T endógenos funcionales adicionales, en particular linfocitos T CD4+, estaban asociados a una respuesta duradera. Un mayor número de linfocitos T estimulados y/o funcionales y un menor número de macrófagos al inicio del estudio también estaban asociados a una respuesta duradera al tratamiento de linfocitos T CAR+. Estos resultados también respaldan la observación de que los tumores en los sujetos que responden pueden tener un microentorno tumoral (TME) inicial en el que los linfocitos T pueden infiltrarse y responder al antígeno, promoviendo la entrada de T CAR+ en tumores y el posterior reclutamiento y estimulación de linfocitos endógenos que apoyan la función de linfocitos T CAR+.

La presente invención no pretende limitarse en su alcance a las realizaciones particulares desveladas, que se proporcionan, por ejemplo, para ilustrar diversos aspectos de la invención. Se harán evidentes diversas modificaciones de las composiciones y métodos que se describen a partir de la descripción y las enseñanzas del presente documento.

SECUENCIAS

SEQ ID NO.	SECUENCIA	DESCRIPCIÓN
1	ESKYGPPCPPCP	espaciador (bisagra de IgG4) (aa) Homo sapiens
2	GAATCTAAGTACGGACCGCCCTGCCCCCCTTGCCCT	espaciador (bisagra de IgG4) (nt) homo sapiens
3	ESKYGPPCPPCPGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK	Bisagra-CH3 espaciador Homo sapiens
4	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK	Bisagra-CH2-CH3 espaciador Homo sapiens
5	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQE ERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTWEV AGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPPQR LMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLEDQRE VNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNA SRSLEVSYVTDH	IgD-bisagra-Fc Homo sapiens

(continuación)

SEQ ID NO.	SECUENCIA	DESCRIPCIÓN
6	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A artificial
7	MLLLVTSLLLCELPHPAFLLIPRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSI SGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLDPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHA FENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYAN TINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCR NVSRGRECVDKCNLLEGEPREFVENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQ CAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEG CPTNGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALGIGLFM	tEGFR artificial
8	FWVLVWGGVLACYS LLVTVAFII FWV	CD28 (aminoácidos 153-179 del N.º de Acceso P 10747) Homo sapiens
9	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYS LLVTVAFIIFWV	CD28 (aminoácidos 114-179 del N.º de Acceso P 10747) Homo sapiens
10	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (aminoácidos 180-220 de P 10747) Homo sapiens
11	RSKRSRGGHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS	CD28 (LL a GG) Homo sapiens
12	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	4-1BB (aminoácidos 214-255 de Q07011.1) Homo sapiens
13	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 zeta Homo sapiens
14	RVKFSRSAEPPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 zeta Homo sapiens
15	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNP QEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQA LPPR	CD3 zeta Homo sapiens
16	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSISGDLHILPVAFRGDSFTHTPPL DPQELDILKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRTKQHGQFSLAVV SLNITSLGLRSLKEISDGDVIISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRG ENSCKATGQVCHALCSPEGCWGPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCNLLEGEPREF VENSECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGEN NTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPTNGPKIPSIATGMVGALLLL LVVALGIGLFM	tEGFR artificial

(continuación)

SEQ ID NO.	SECUENCIA	DESCRIPCIÓN
17	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A artificial
18	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
19	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
20	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
21	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
22	PGGG- (SGGGG) 5-P- en donde P es prolina, G es glicina y S es serina	enlazador
23	GSADDAKKDAAKKDGKS	Enlazador
24	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	Enlazador
25	gacatccagatgacccagaccacctccagcctgagcgccagcctgggcgaccgg gtgaccatcagctgccgggccagccaggacatcagcaagtacctgaactggtat cagcagaagcccgacggcaccgtcaagctgctgatctaccacaccagccggctg cacagcggcgtgcccagccggtttagcggcagcggctccggcaccgactacagc ctgaccatctccaacctggaacaggaagatatcgccacctacttttgccagcag ggcaacacactgccctacacctttggcggcggaacaaagctggaaatcaccggc agcacctccggcagcggcaagcctggcagcggcgagggcagcaccaagggcgag gtgaagctgcaggaaagcggccctggcctggtggcccccagccagagcctgagc gtgacctgcaccgtgagcggcgtgagcctgcccgactacggcgtgagctggatc cggcagcccccccaggaagggcctggaatggctgggcgtgatctggggcagcgag accacctactacaacagcgccctgaagagccggctgaccatcatcaaggacaac agcaagagccaggtgttcctgaagatgaacagcctgcagaccgacgacaccgcc atctactactgcgccaagcactactactacggcggcagctacgccatggactac tggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcagc	Secuencia que codifica scFv
26	X_1PPX_2P X_1 es glicina, cisteína o arginina X_2 es cisteína o treonina	Bisagra
27	Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro	Bisagra
28	Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro	Bisagra
29	ELKTPLGDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTP PPCPRCP	Bisagra
30	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro	Bisagra
31	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Bisagra
32	Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Bisagra
33	Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Bisagra
34	Glu Val Val Val Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro	Bisagra
35	RASQDISKYLN	CDR L1
36	SRLHSGV	CDR L2
37	GNTLPYTFG	CDR L3
38	DYGVS	CDR H1
39	VIWGSETTYYNSALKS	CDR H2
40	YAMDYWG	CDR H3

(continuación)

SEQ ID NO.	SECUENCIA	DESCRIPCIÓN
41	EVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGS ETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMD YWGQGTSVTVSS	VH
42	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRL HSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEIT	VL
43	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRL HSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITG STSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWI RQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTA IYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS	scFv
44	KASQNVGTNVA	CDR L1
45	SATYRNS	CDR L2
46	QQYNRYPYT	CDR L3
47	SYWMN	CDR H1
48	QIYPGDGDTNYNGKFKG	CDR H2
49	KTISSVVDFYFDY	CDR H3
50	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPG DGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVVDFY FDYWGQGTTVTVSS	VH
51	DIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYR NSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	VL
52	GGGGSGGGGSGGGGS	Enlazador
53	EVKLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPG DGDTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYFCARKTISSVVDFY FDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIELTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKA SQNVGTNVAWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQ SKDLADYFCQQYNRYPYTSGGGTKLEIKR	scFv
54	HYYYGGSYAMDY	CDR H3
55	HTSRLHS	CDR L2
56	QQGNTLPYT	CDR L3
57	ACACGGCCTCGTGTATTACTGT	Cebador de IGH
58	ACCTGAGGAGACGGTGACC	Cebador de IGH

REIVINDICACIONES

1. Una dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ para su uso en un método para tratar a un sujeto que tiene o se sospecha que tiene una enfermedad o afección que es un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento (LLBG r/r), comprendiendo el método administrar al sujeto la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$, en donde los linfocitos T de cada dosis comprenden un receptor de antígeno quimérico (CAR) que se une específicamente a CD19, en donde:

en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto es o ha sido identificado como no elegible tanto para una quimioterapia de dosis alta como para un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH);
la dosis de linfocitos T comprende entre exactamente o aproximadamente 1×10^7 linfocitos T que expresan CAR y exactamente o aproximadamente 2×10^8 linfocitos T que expresan CAR, inclusive;
la dosis de linfocitos T comprende una relación de aproximadamente 1:1 de linfocitos T $CD4^+$ que expresan el CAR con respecto a linfocitos T $CD8^+$ que expresan el CAR; y
la administración comprende administrar una pluralidad de composiciones separadas, en donde la pluralidad de composiciones separadas comprende una primera composición que comprende linfocitos T $CD8^+$ y una segunda composición que comprende linfocitos T $CD4^+$.

2. La dosis de células para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el linfoma de linfocitos B grandes se selecciona de un linfoma no Hodgkin (LNH) agresivo, linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG), opcionalmente LDLBG NOS (de novo o transformado a partir de indolente), linfoma de linfocitos B de alto grado (LLBAG), linfoma de doble/triple impacto, linfoma de linfocitos B grandes mediastínico primario (LLBGMP), linfoma de células del manto (LCM), linfoma folicular transformado (LFt) y/o linfoma folicular (LF), opcionalmente linfoma folicular Grado 3B (LF3B).

3. La dosis de células para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el linfoma de linfocitos B grandes es linfoma folicular (LF) y:

(i) el LF está asociado a la co-expresión de CD10, BCL6 y BCL2 dentro de los folículos, y/o reordenamientos t(14;18)/(q32;q21) (IGH-BCL2) y/o BCL6; y/o
(ii) el LF es linfoma folicular de grado 3B (LF3B).

4. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde, en o inmediatamente antes del momento de la administración de la dosis de células, el sujeto ha recaído después de la remisión después del tratamiento con, o se volvió resistente a tratamiento a, dos o más, tres o más, o cuatro o más terapias anteriores para la enfermedad o afección distintas de otra dosis de células que expresan el CAR.

5. La dosis de células para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde:

(i) la terapia anterior comprende una antraciclina y un agente dirigido a CD20, opcionalmente en donde (a) el agente dirigido a CD20 comprende rituximab y/o (b) el uno o más agentes dirigidos a CD20 comprenden R-CHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina clorhidrato (hidroxidaunomicina), sulfato de vincristina (oncovin) y prednisona);
(ii) si la terapia anterior es una terapia dirigida a CD19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después de la terapia dirigida a CD19 anterior comprende una célula que expresa CD19; y/o
(iii) la terapia anterior comprende un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) alogénico o uno autólogo, opcionalmente en donde el sujeto ha recaído en el intervalo de 1 año o menos de 1 año después de recibir el TCMH.

6. La dosis de células para su uso de acuerdo con la reivindicación 4 o reivindicación 5, en donde el sujeto no ha conseguido la remisión completa (RC) en respuesta a la terapia anterior.

7. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde, en el momento o antes de la administración de la dosis de células:

(i) se ha identificado que el sujeto tiene una enfermedad agresiva o enfermedad de alto riesgo o tiene un mal pronóstico;
(ii) se ha identificado que el sujeto tiene una enfermedad resistente a quimioterapia o tiene una enfermedad persistente o recurrente después de la quimioterapia;
(iii) se ha identificado que el sujeto tiene un linfoma resistente a quimioterapia, opcionalmente un LDLBG resistente a quimioterapia; y/o
(iv) se ha identificado que el sujeto tiene un linfoma asociado a o que implica afectación del sistema nervioso central (SNC) o un linfoma secundario del SNC, y/o en donde al menos el 70 % de los sujetos tratados que en el momento o antes de la administración de la dosis de células presentaban o se identificaban que presentaban un linfoma con afectación del SNC o un linfoma secundario del SNC, consiguieron una resolución de la enfermedad

del SNC.

8. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde:

(i) el sujeto tiene 70 años o más;
(ii) en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función cardíaca deteriorada, opcionalmente con una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) inferior a exactamente o aproximadamente el 50 %;
(iii) en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función renal deteriorada, opcionalmente con un aclaramiento de creatinina calculado inferior a exactamente o aproximadamente 60 ml/min;
(iv) en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función pulmonar deteriorada, opcionalmente con una capacidad de difusión de los pulmones para monóxido de carbono (DLCO) de exactamente o aproximadamente el 60 % o menos;
(v) en el momento o antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una función hepática deteriorada, opcionalmente con una aspartato aminotransferasa (AST) y una alanina aminotransferasa (ALT) de más de exactamente o aproximadamente el doble del límite superior de la normalidad (LSN); y/o
(vi) el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene un estado funcional del Grupo Oncológico Cooperativo de la Costa Este (ECOG PS) de 2.

9. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde, en el momento o antes de la administración de la dosis de células:

(a)

(i) el sujeto ha recibido una quimioterapia de transición entre el momento de la leucocitaféresis para producir la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ y la administración de la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ y/o
(ii) el sujeto ha recibido una quimioterapia de transición para el control de la enfermedad después de una terapia anterior,

y opcionalmente en donde (b) la quimioterapia de transición se selecciona entre uno o más de: rituximab-gemcitabina más oxaliplatino, dexametasona, radioterapia, rituximab, prednisona, BR, lenalidomida, gemcitabina más oxaliplatino, brentuximab vedotina, ibrutinib, bendamustina y/o gemcitabina + rituximab.

10. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde, antes de la administración de la dosis de células, el sujeto se identifica o se ha identificado que tiene una suma de dimensiones de producto (SPD) de un tumor en el sujeto que es exactamente o aproximadamente 50 cm^2 o mayor y/o el sujeto tiene una enfermedad positiva para la tomografía por emisión de positrones (TEP).

11. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el método comprende, antes de la administración de la dosis de células, identificar o seleccionar para la administración de la dosis de células un sujeto que tiene o es:

(a) un linfoma de linfocitos B grandes recurrente o resistente a tratamiento; y/o

una terapia anterior con una antraciclina y uno o más agentes dirigidos a CD20; y/o
enfermedad recurrente o resistente a tratamiento después de dos o más líneas de terapia o después de un TCMH autólogo; y/o que tiene un estado funcional del ECOG de 0, 1 o 2; y/o
si el sujeto ha recibido una terapia dirigida a CD19 anterior, una muestra biológica obtenida del sujeto después de la terapia dirigida a CD19 anterior comprende una célula que expresa CD19;

(b) 70 años o más; y/o

un estado funcional del ECOG de 2; y/o
una función pulmonar deteriorada, opcionalmente con una capacidad de difusión de los pulmones para monóxido de carbono (DLCO) de exactamente o aproximadamente el 60 % o menos; y/o
una función cardiaca deteriorada, opcionalmente con una fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) inferior a exactamente o aproximadamente el 50 %; y/o
una función renal deteriorada, opcionalmente con un aclaramiento de creatinina calculado inferior a exactamente o aproximadamente 60 ml/min; y/o
una función hepática deteriorada, opcionalmente con una aspartato aminotransferasa (AST) y una alanina aminotransferasa (ALT) de más de exactamente o aproximadamente el doble del límite superior de la normalidad (LSN); o

(c) un linfoma de doble/triple impacto;

un linfoma resistente a quimioterapia, opcionalmente un LDLBG resistente a quimioterapia;
ha recaído en el intervalo de 1 año o menos de 1 año después de recibir un trasplante de células madre autólogo (TCMA); y/o
tiene un linfoma asociado a o que implica afectación del sistema nervioso central (SNC).

12. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde:

(i) el inicio de la administración de la primera composición se realiza antes del inicio de la administración de la segunda composición;
(ii) la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan con no más de 48 horas de diferencia, no más de 36 horas de diferencia, no más de 24 horas de diferencia, no más de 12 horas de diferencia, no más de 6 horas de diferencia, no más de 4 horas de diferencia, no más de 2 horas de diferencia, no más de 1 hora de diferencia o no más de 30 minutos de diferencia;
(iii):

la administración de la primera composición y la administración de la segunda composición se realizan el mismo día, se realizan con entre aproximadamente 0 y aproximadamente 12 horas de diferencia, entre aproximadamente 0 y aproximadamente 6 horas de diferencia o entre aproximadamente 0 a 2 horas de diferencia; o
el inicio de la administración de la primera composición y el inicio de la administración de la segunda composición se realizan con entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 1 hora de diferencia o entre aproximadamente 5 minutos y aproximadamente 30 minutos de diferencia; o
(iv) la primera composición y la segunda composición se administran con no más de 2 horas, no más de 1 hora, no más de 30 minutos, no más de 15 minutos, no más de 10 minutos o no más de 5 minutos de diferencia.

13. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el CAR comprendido por los linfocitos T $CD4^+$ y/o el CAR comprendido por los linfocitos T $CD8^+$ es un CAR que es el mismo y/o en donde los linfocitos T $CD4^+$ y/o los linfocitos T $CD8^+$ se modifican genéticamente para expresar el CAR que es el mismo.

14. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en donde la dosis de linfocitos T $CD4^+$ y $CD8^+$ comprende:

entre exactamente o aproximadamente $2,5 \times 10^7$ y exactamente o aproximadamente $1,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales, inclusive;
entre exactamente o aproximadamente 5×10^7 y exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales, inclusive;
exactamente o aproximadamente 5×10^7 linfocitos T que expresan CAR totales;
exactamente o aproximadamente 1×10^8 linfocitos T que expresan CAR totales; o
exactamente o aproximadamente $1,5 \times 10^8$ linfocitos T que expresan CAR totales.

15. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde, antes de la administración, el sujeto se ha preacondicionado con una terapia con reducción de linfocitos que comprende la administración de fludarabina y/o ciclofosfamida.

16. La dosis de células para su uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la administración de la dosis de células y/o la terapia con reducción de linfocitos se realiza a través de suministro ambulatorio, opcionalmente en donde la administración de la dosis de células y/o la terapia con reducción de linfocitos se realiza en un centro de asistencia no terciaria.

17. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde:

(a)

(i) la administración y cualquier seguimiento se realiza en base ambulatoria y/o sin requerir ingreso o pernoctación en un hospital; y
si el sujeto presenta una fiebre sostenida o una fiebre que es o no se ha reducido o no se reduce en más de 1 °C después del tratamiento con un antipirético, el sujeto se admite en el hospital o pasa la noche en un hospital y/o se le administra un agente o tratamiento para el tratamiento o prevención o reducción o atenuación de una neurotoxicidad y/o un síndrome de liberación de citocinas o riesgo del mismo; y/o
(ii) antes del inicio de la administración de la dosis de células, al sujeto no se le ha administrado un agente o tratamiento para el tratamiento o prevención o reducción o atenuación de una neurotoxicidad y/o un síndrome de liberación de citocinas o riesgo del mismo,
y opcionalmente en donde:

(b) el agente es o comprende un anticuerpo anti-IL-6, anticuerpo anti-receptor de IL-6 o un esteroide; y/o
(c) el agente es o comprende tocilizumab, siltuximab, dexametasona o metilprednisolona; tal como en donde el agente es o comprende tocilizumab o dexametasona.

18. La dosis de células para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, en donde:

el CAR comprende un dominio de unión a antígeno extracelular específico para CD19, un dominio transmembrana, un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula coestimuladora, que opcionalmente es un 4-1BB, y un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula que contiene ITAM de señalización primaria, que opcionalmente es un CD3zeta;
el CAR comprende, en orden, un dominio de unión a antígeno extracelular específico para CD19, un dominio transmembrana, un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula coestimuladora y un dominio de señalización citoplasmático derivado de una molécula que contiene ITAM de señalización primaria; o
el CAR comprende un dominio de reconocimiento de antígeno extracelular que se une específicamente a CD19 y un dominio de señalización intracelular que comprende una cadena CD3-zeta (CD3ζ) y una región de señalización coestimuladora que es un dominio de señalización de 4-1BB.

19. La dosis de células para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el dominio de unión a antígeno es un scFv, opcionalmente en donde el scFv comprende:

una secuencia de aminoácidos de RASQDISKYLN (SEQ ID NO: 35), una secuencia de aminoácidos de SRLHSGV (SEQ ID NO: 36), una secuencia de aminoácidos de GNTLPYTFG (SEQ ID NO: 37) una secuencia de aminoácidos de DYGVS (SEQ ID NO: 38), una secuencia de aminoácidos de VIWGSETTYYNSALKS (SEQ ID NO: 39) y/o una secuencia de aminoácidos de YAMDYWG (SEQ ID NO: 40); o
una región de cadena pesada variable de FMC63 y una región de cadena ligera variable de FMC63 y/o una secuencia de CDRL1 de FMC63, una secuencia de CDRL2 de FMC63, una secuencia de CDRL3 de FMC63, una secuencia de CDRH1 de FMC63, una secuencia de CDRH2 de FMC63 y una secuencia de CDRH3 de FMC63 o se une al mismo epítopo o compite por la unión con cualquiera de los anteriores,
opcionalmente en donde el scFv comprende, en orden, una V_H, un enlazador, que comprende opcionalmente SEQ ID NO: 24, y una V_L, y/o el scFv comprende un enlazador flexible y/o comprende la secuencia de aminoácidos expuesta como SEQ ID NO: 43.

20. La dosis de células para su uso de acuerdo con la reivindicación 18 o reivindicación 19, en donde:

(ii) la región de señalización coestimuladora es un dominio de señalización de 4-1BB, opcionalmente en donde el dominio coestimulador comprende la SEQ ID NO: 12 o una variante de la misma que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma;
(ii) el dominio de señalización primario es un dominio de señalización CD3zeta, opcionalmente en donde el dominio de señalización primario comprende la SEQ ID NO: 13 o 14 o 15 que tiene al menos un 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de identidad de secuencia con la misma; y/o
(iii) el CAR comprende además un espaciador entre el dominio transmembrana y el scFv, opcionalmente en donde el espaciador es un espaciador polipeptídico que comprende o consiste en toda o una porción de una bisagra de inmunoglobulina o una versión modificada de la misma, opcionalmente una bisagra de IgG4, o una versión modificada de la misma y/o el espaciador tiene una longitud de exactamente o aproximadamente 12 aminoácidos.

FIG. 1

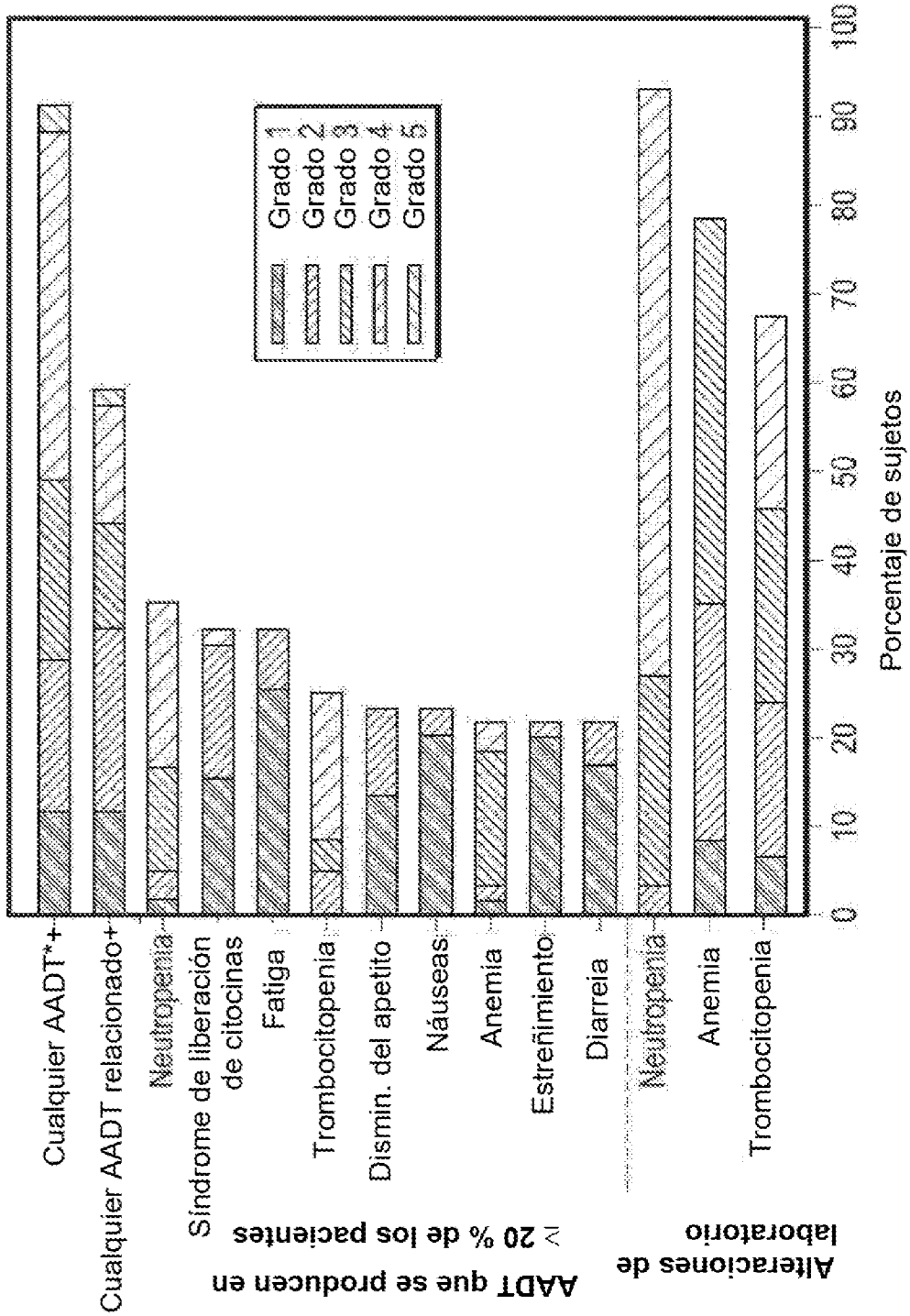

AADT que se producen en ≥ 20 % de los pacientes
Cualquier AADT*+
Cualquier AADT relacionado+
Neutropenia
Síndrome de liberación de citocinas
Fatiga
Trombocitopenia
Dismin. del apetito
Náuseas
Anemia
Estreñimiento
Diarrea
Alteraciones de laboratorio
Neutropenia
Anemia
Trombocitopenia
Grado 1
Grado 2
Grado 3
Grado 4
Grado 5
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Porcentaje de sujetos

FIG. 2

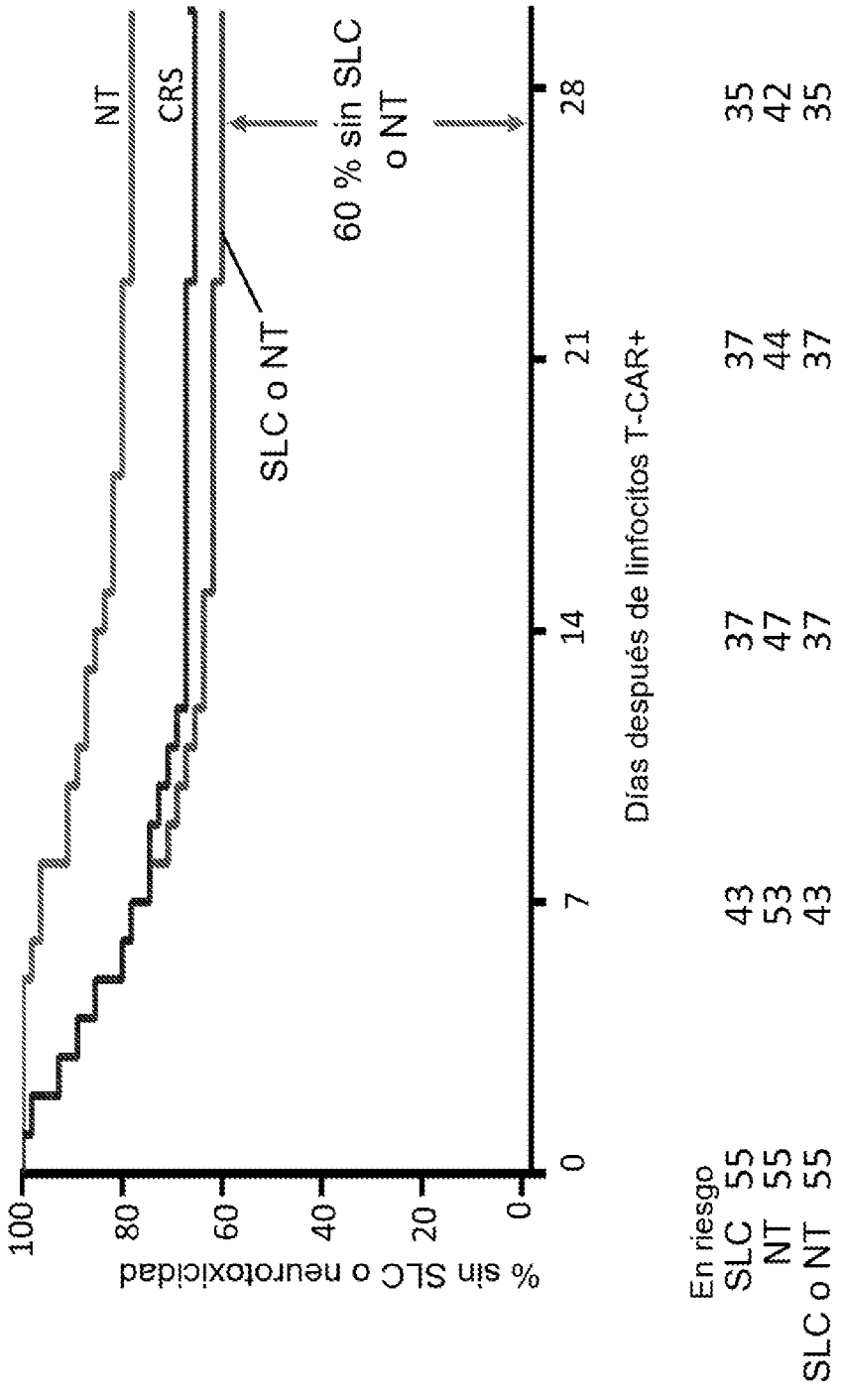

% sin SLC o neurotoxicidad
100
80
60
40
20
0
NT
CRS
SLC o NT
60 % sin SLC o NT
0
7
14
21
28
Días después de linfocitos T-CAR+
En riesgo
SLC 55 43 37 37 35
NT 55 53 47 44 42
SLC o NT 55 43 37 37 35

FIG. 3A

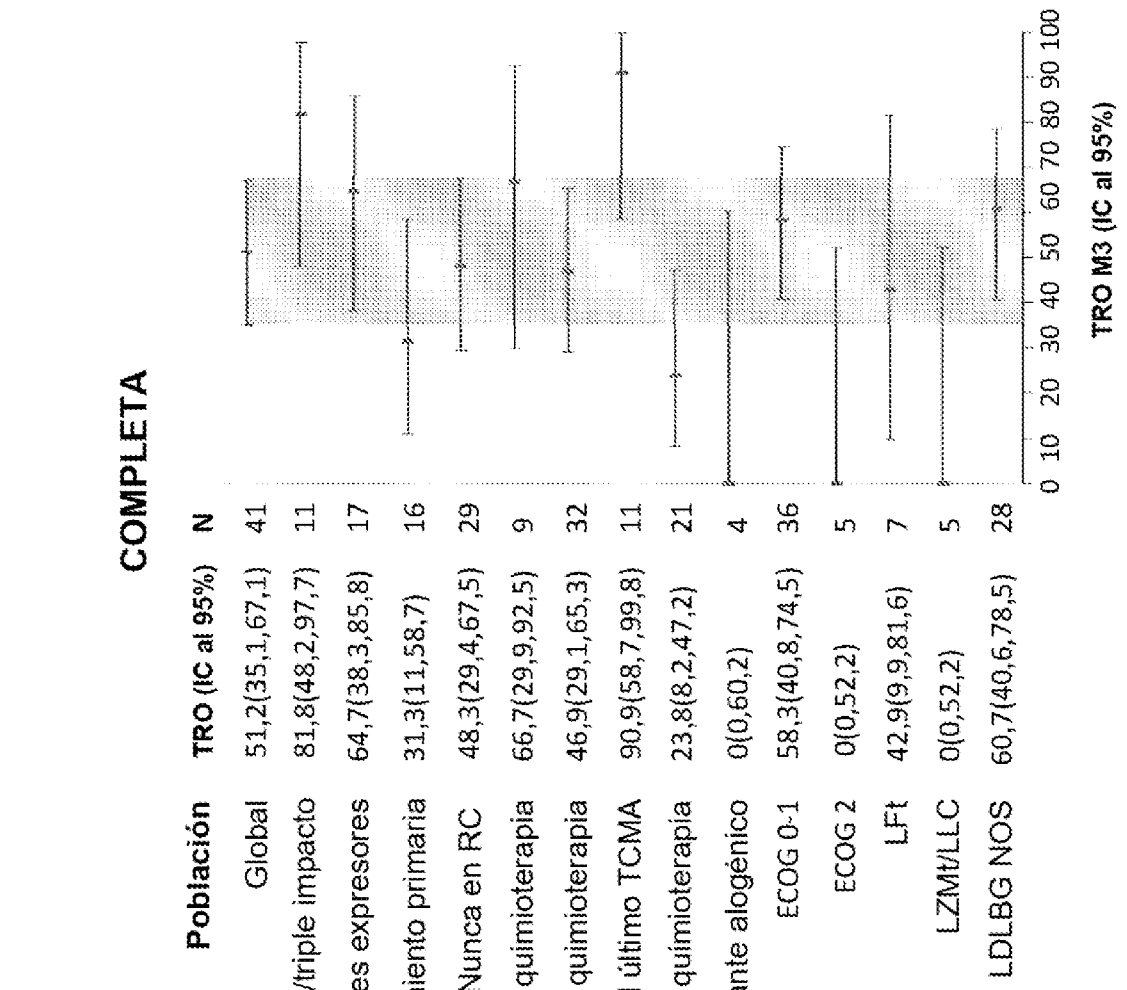

COMPLETA
Población
TRO (IC al 95%)
N
Global
51,2(35,1,67,1)
41
Doble/triple impacto
81,8(48,2,97,7)
11
Doble/triple impacto / dobles expresores
64,7(38,3,85,8)
17
Resistencia a tratamiento primaria
31,3(11,58,7)
16
Nunca en RC
48,3(29,4,67,5)
29
Sensible a quimioterapia
66,7(29,9,92,5)
9
Resistente a quimioterapia
46,9(29,1,65,3)
32
Recaída < 12 meses del último TCMA
90,9(58,7,99,8)
11
CE/C hasta la última quimioterapia
23,8(8,2,47,2)
21
Post-trasplante alogénico
0(0,60,2)
4
ECOG 0-1
58,3(40,8,74,5)
36
ECOG 2
0(0,52,2)
5
LFt
42,9(9,9,81,6)
7
LZMt/LLC
0(0,52,2)
5
LDLBG NOS
60,7(40,6,78,5)
28
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
TRO M3 (IC al 95%)

FIG. 3B

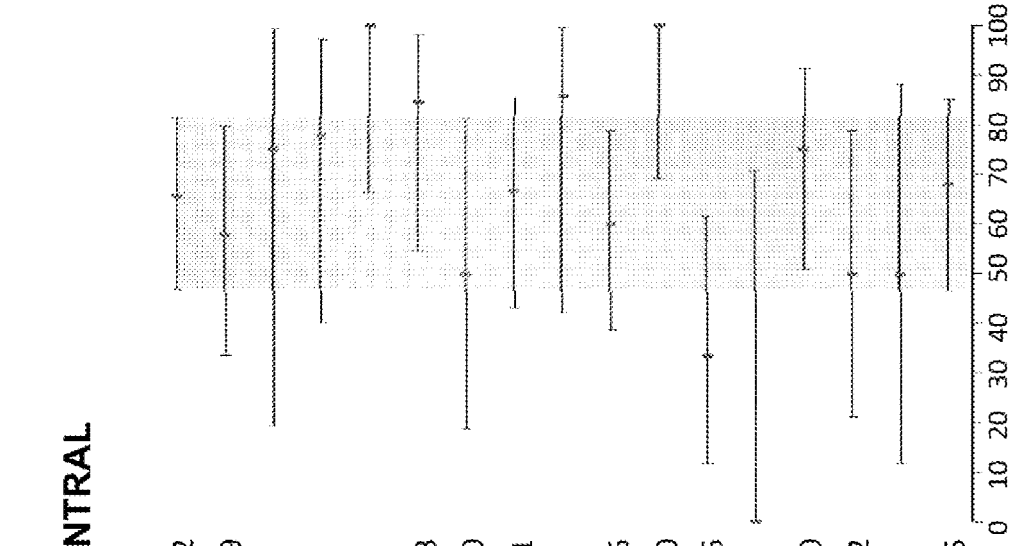

CENTRAL
Población
TRO (IC al 95%)
N
Pob. central
65,6(46,8,81,4)
32
DL1S
57,9(33,5,79,7)
19
DL1D
75(19,4,99,4)
4
DL2S
77,8(40,97,2)
9
Doble/triple impacto
100(66,4,100)
9
Doble/triple impacto / dobles expresores
84,6(54,6,98,1)
13
Resistencia a tratamiento primaria
50(18,7,81,3)
10
Nunca en RC
66,7(43,85,4)
21
Sensible a quimioterapia
85,7(42,1,99,6)
7
Resistente a quimioterapia
60(38,7,78,9)
25
Recaída < 12 meses del último TCMA
100(69,2,100)
10
CE/C hasta la última quimioterapia
33,3(11,8,61,6)
15
Post-trasplante alogénico
0(0,70,8)
3
ECOG 0
75(50,9,91,3)
20
ECOG 1
50(21,1,78,9)
12
LFt
50(11,8,88,2)
6
LDLBG NOS
68(46,5,85,1)
25
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
TRO M3 (IC al 95%)

FIG. 4A

COMPLETA

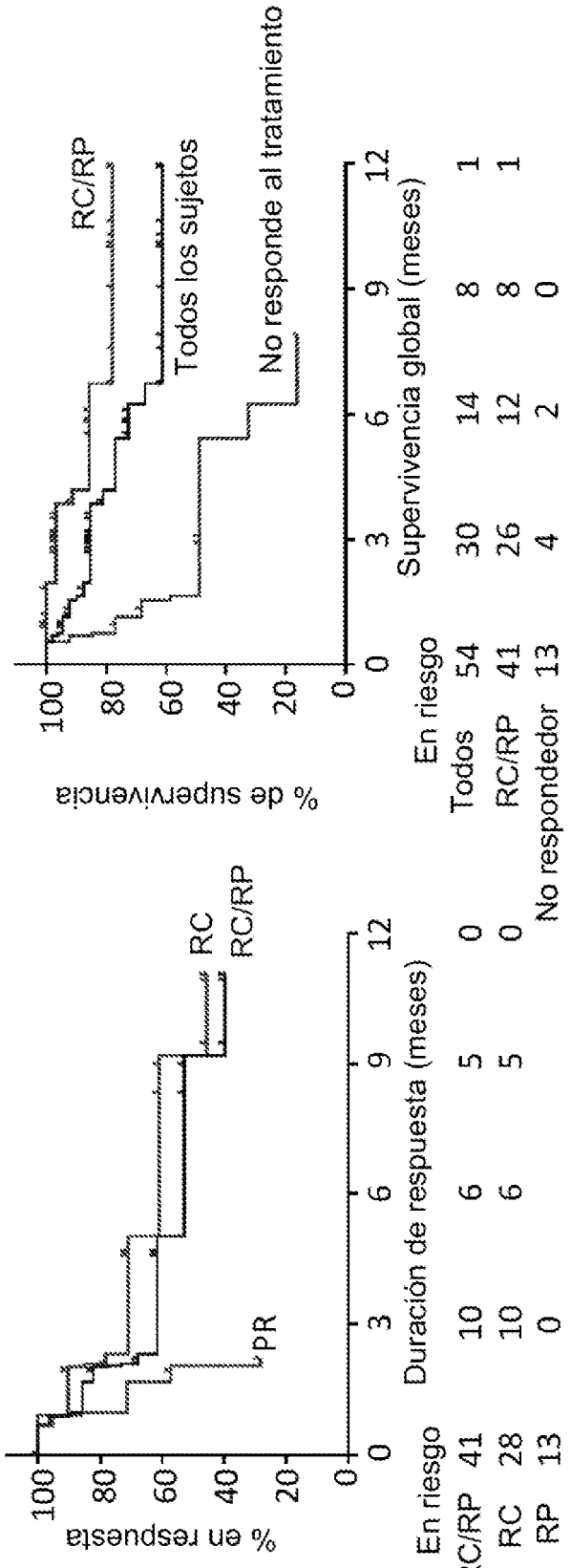


FIG. 4B

CENTRAL

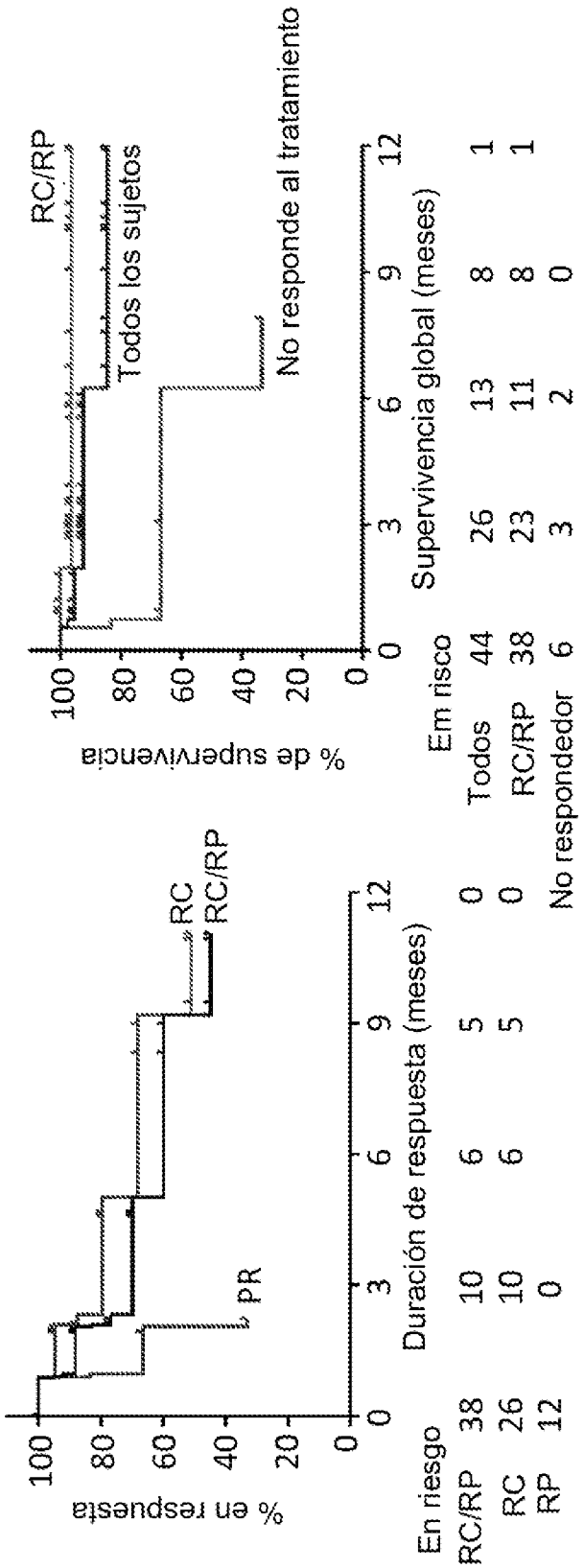


FIG. 5A

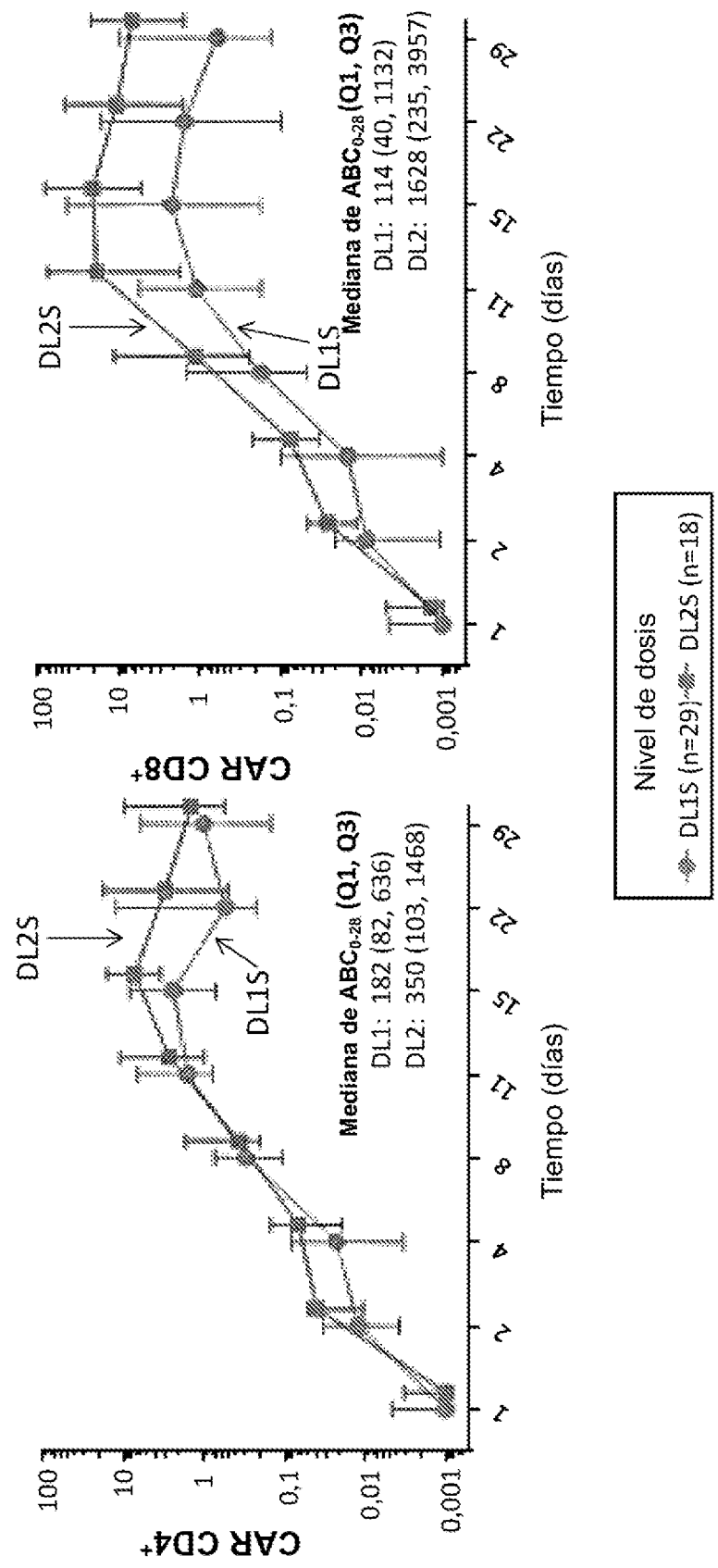

Nivel de dosis
CAR CD4+
CAR CD8+
100
10
1
0,1
0,01
0,001
DL2S
DL1S
Mediana de ABC0-28 (Q1, Q3)
DL1: 182 (82, 636)
DL2: 350 (103, 1468)
DL1: 114 (40, 1132)
DL2: 1628 (235, 3957)
Tiempo (días)
1
2
4
8
12
15
22
29
Nivel de dosis
DL1S (n=29)
DL2S (n=18)

FIG. 5B

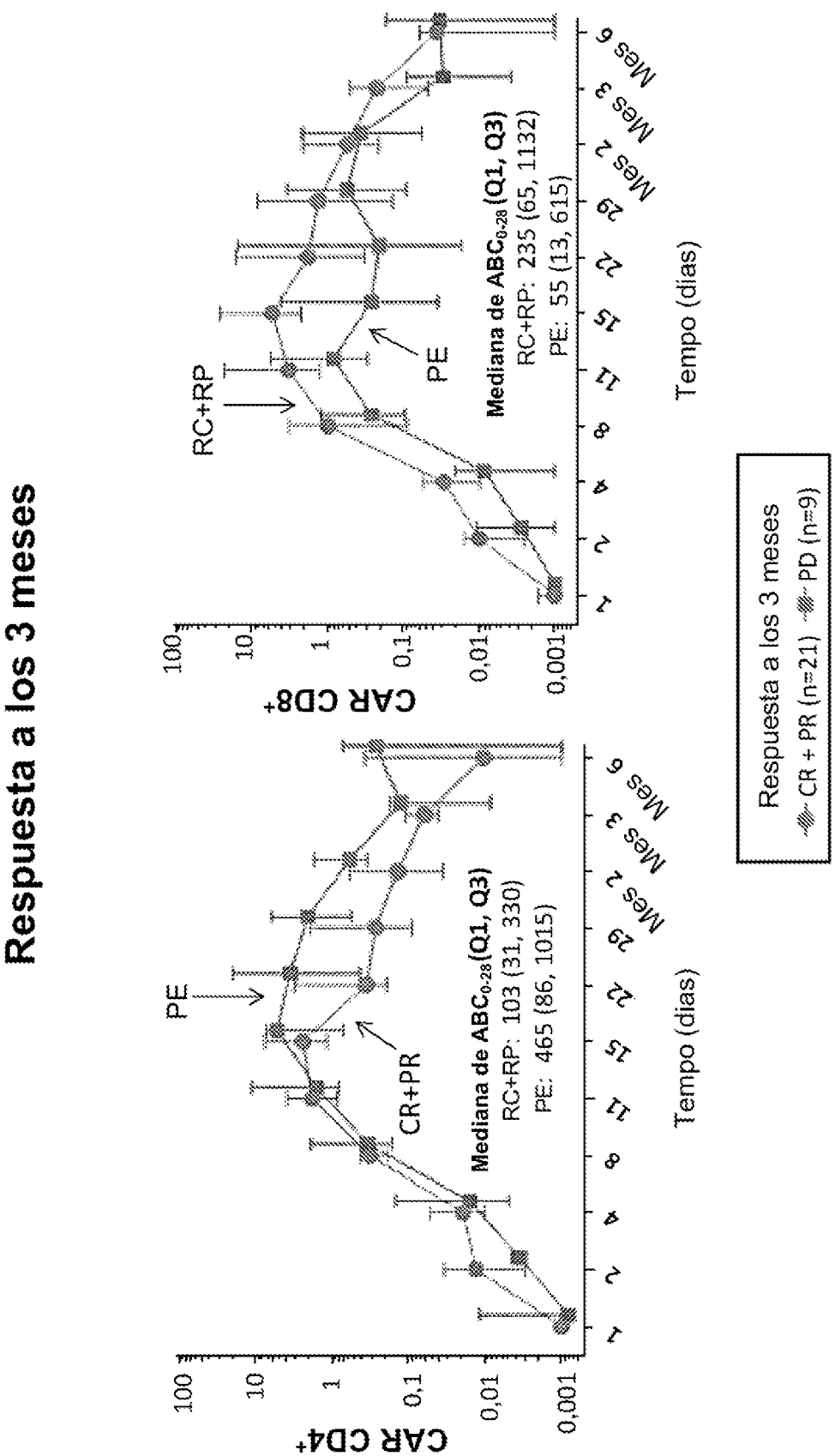
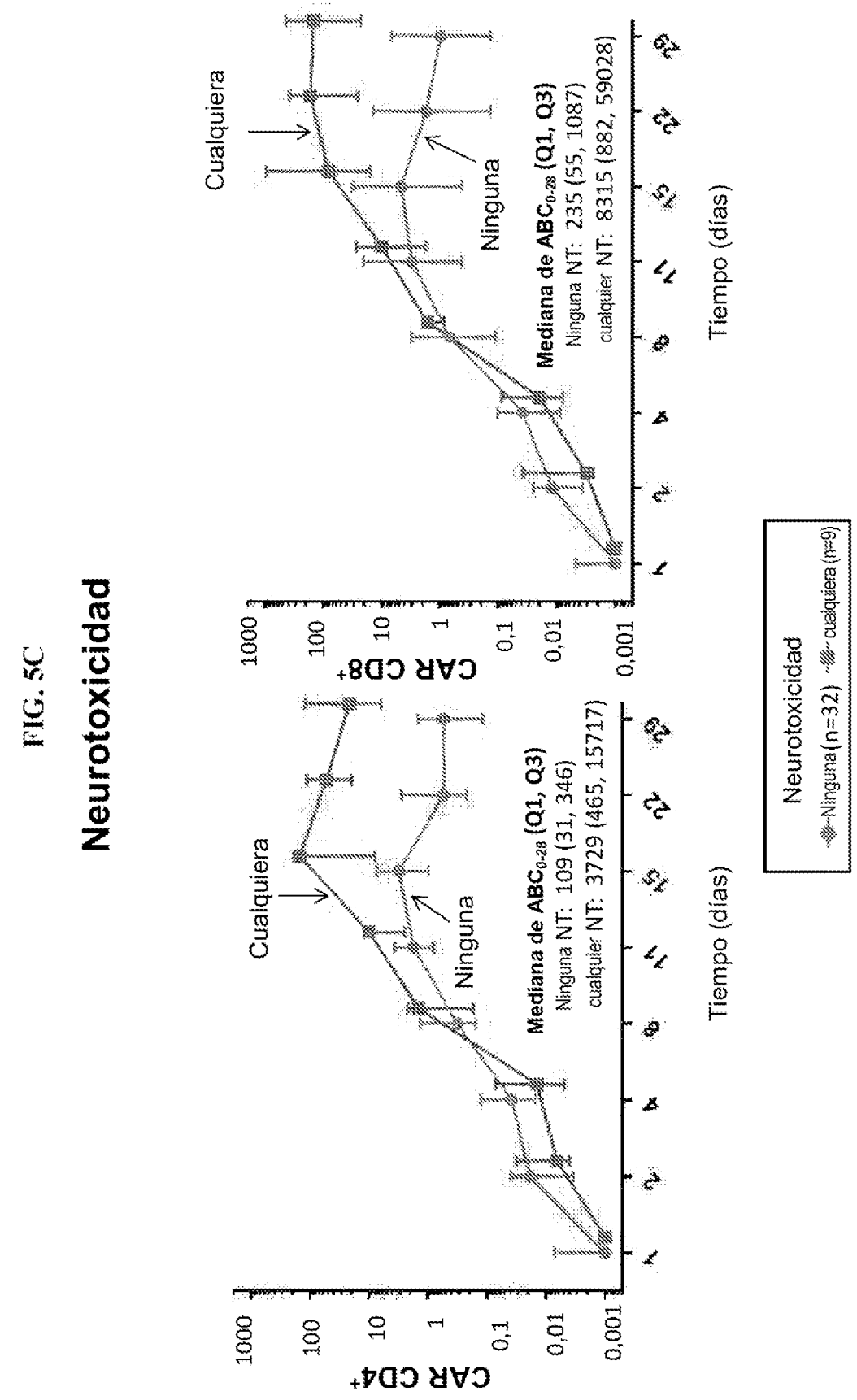

Respuesta a los 3 meses
CAR CD4+
CAR CD8+
100
10
1
0,1
0,01
0,001
PE
CR+PR
RC+PR
Mediana de ABC0-28 (Q1, Q3)
RC+RP: 103 (31, 330)
PE: 465 (86, 1015)
RC+RP: 235 (65, 1132)
PE: 55 (13, 615)
1
2
4
8
11
15
22
29
Mes 2
Mes 3
Mes 6
Tempo (dias)
Respuesta a los 3 meses
CR + PR (n=21)
PD (n=9)

FIG. 5C


Neurotoxicidad
CAR CD4+
CAR CD8+
1000
100
10
1
0,1
0,01
0,001
Cualquiera
Ninguna
Mediana de ABC0-28 (Q1, Q3)
Ninguna NT: 109 (31, 346)
cualquier NT: 3729 (465, 15717)
Mediana de ABC0-28 (Q1, Q3)
Ninguna NT: 235 (55, 1087)
cualquier NT: 8315 (882, 59028)
Tiempo (días)
Neurotoxicidad
Ninguna (n=32)
cualquiera (n=9)

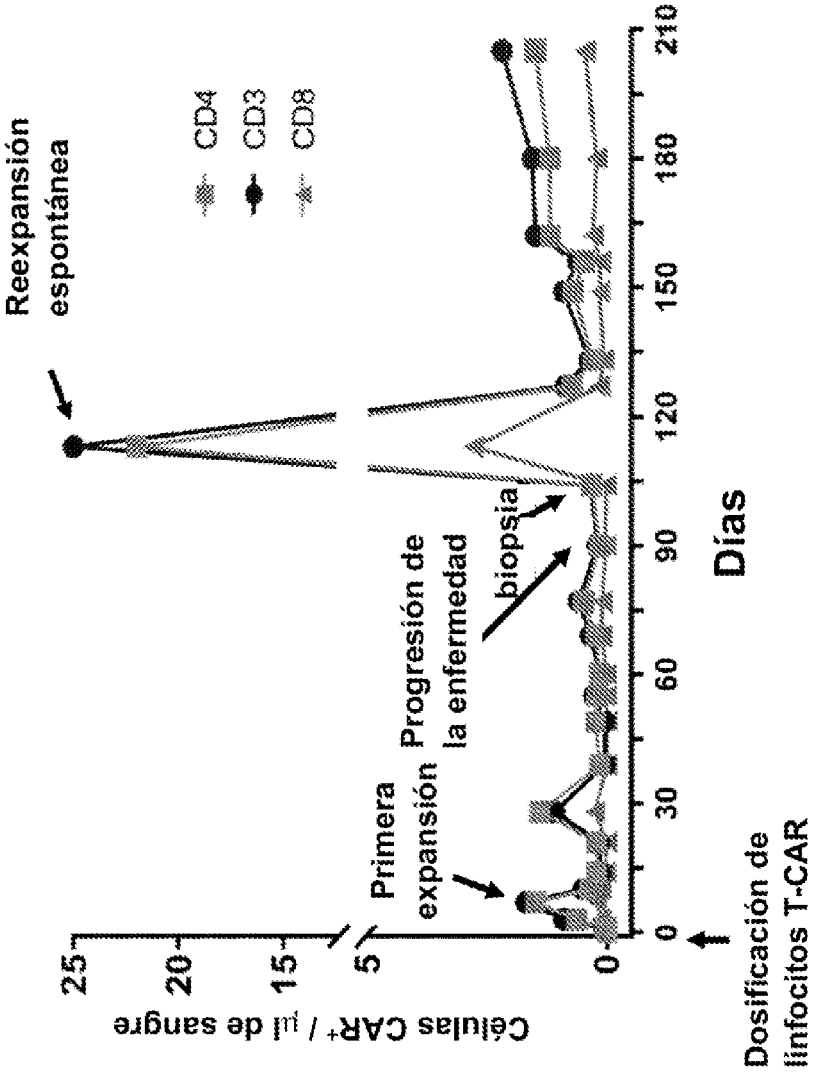

Reexpansión espontánea
CD4
CD3
CD8
Primera expansión
Progresión de la enfermedad
biopsia
Días
Dosificación de linfocitos T-CAR
Células CAR+ / µl de sangre
25
20
15
5
0
0
30
60
90
120
150
180
210

FIG. 6A

FIG. 6C

FIG. 6B

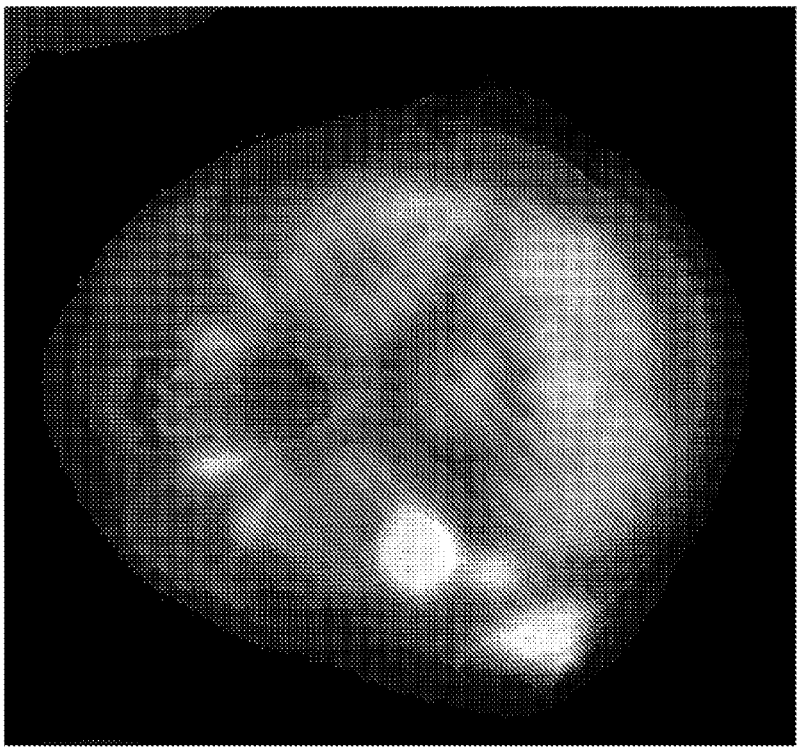


FIG. 6E

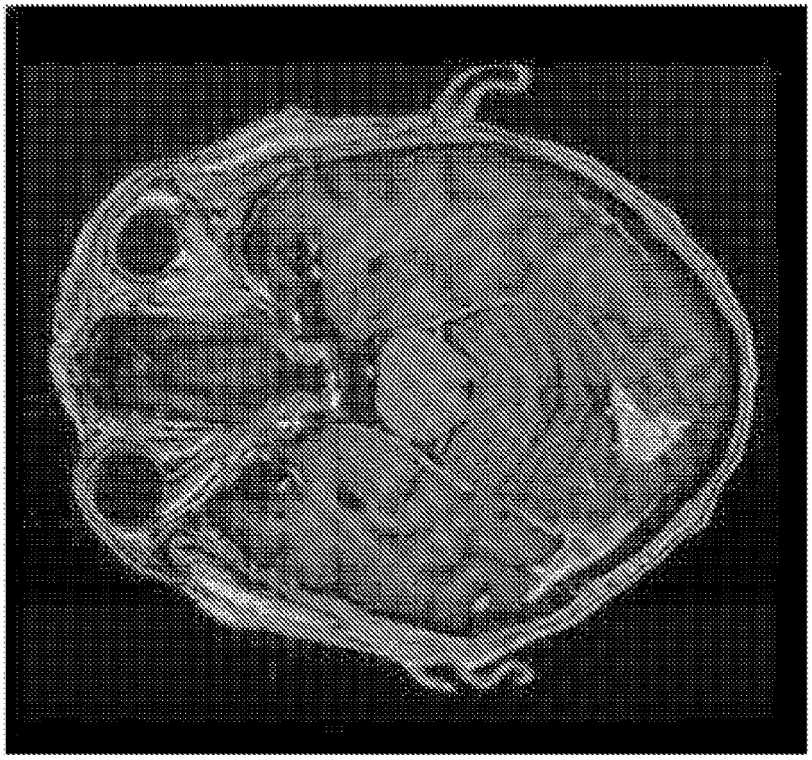


FIG. 6D

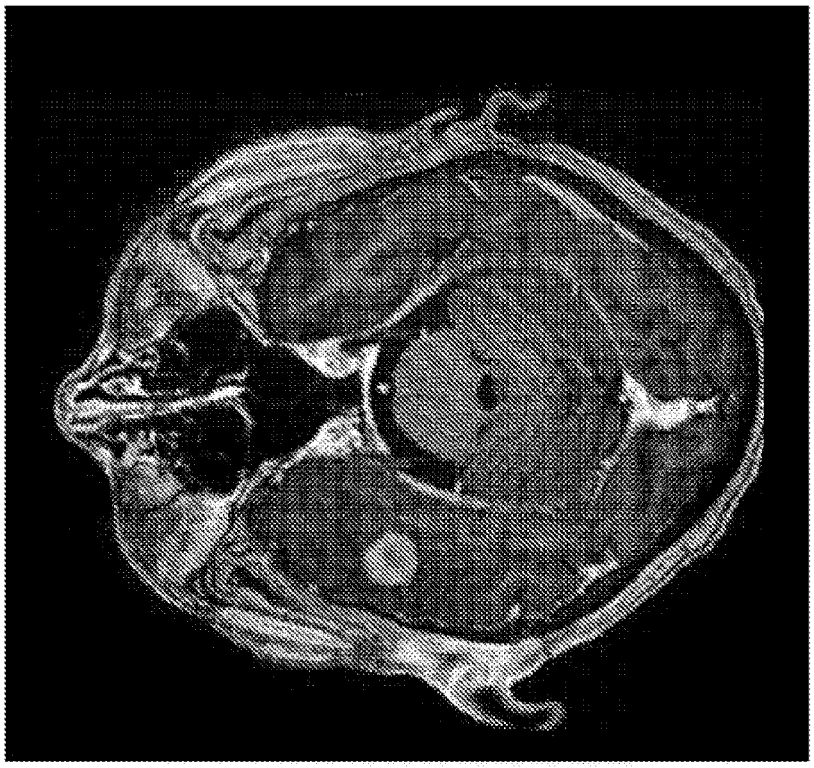


FIG. 6G

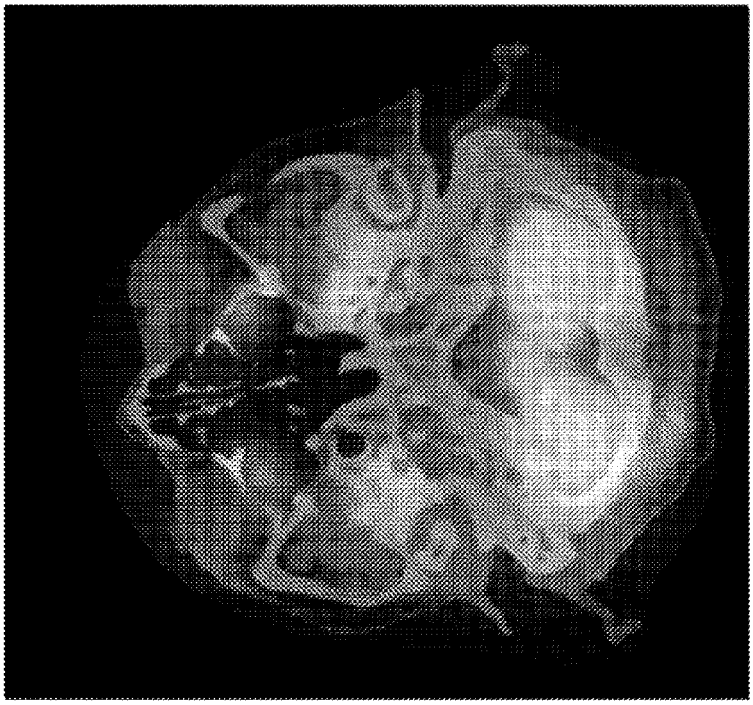


FIG. 6F

FIG. 7

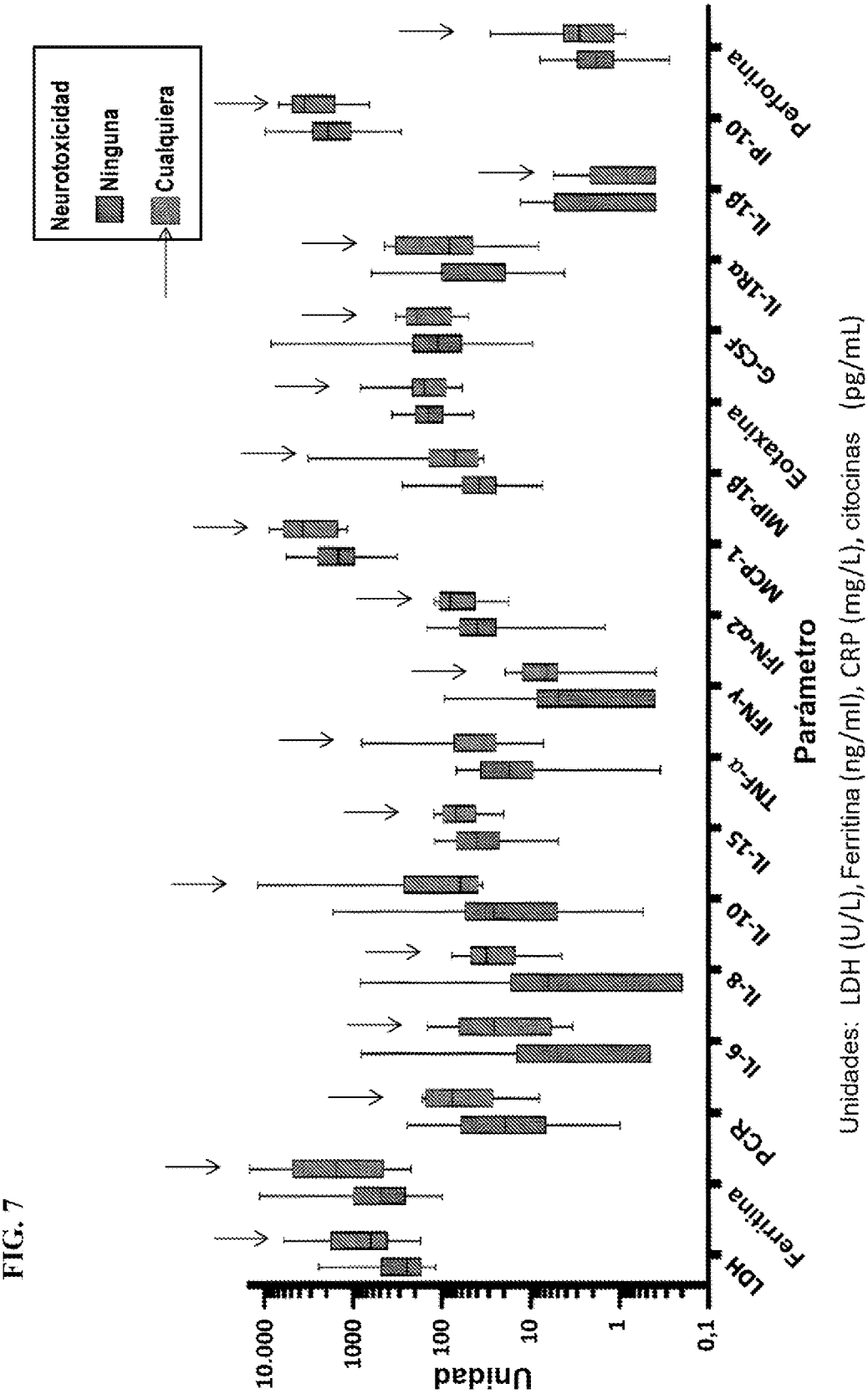

Neurotoxicidad
Ninguna
Cualquiera
Unidad
10.000
1000
100
10
1
0,1
LDH
Ferritina
PCR
IL-6
IL-8
IL-10
IL-15
TNF-α
IFN-γ
IFN-α2
MCP-1
MIP-1β
Eotaxina
G-CSF
IL-1Rα
IL-1β
IP-10
Perforina
Parámetro
Unidades: LDH (U/L), Ferritina (ng/ml), CRP (mg/L), citocinas (pg/mL)

FIG. 8

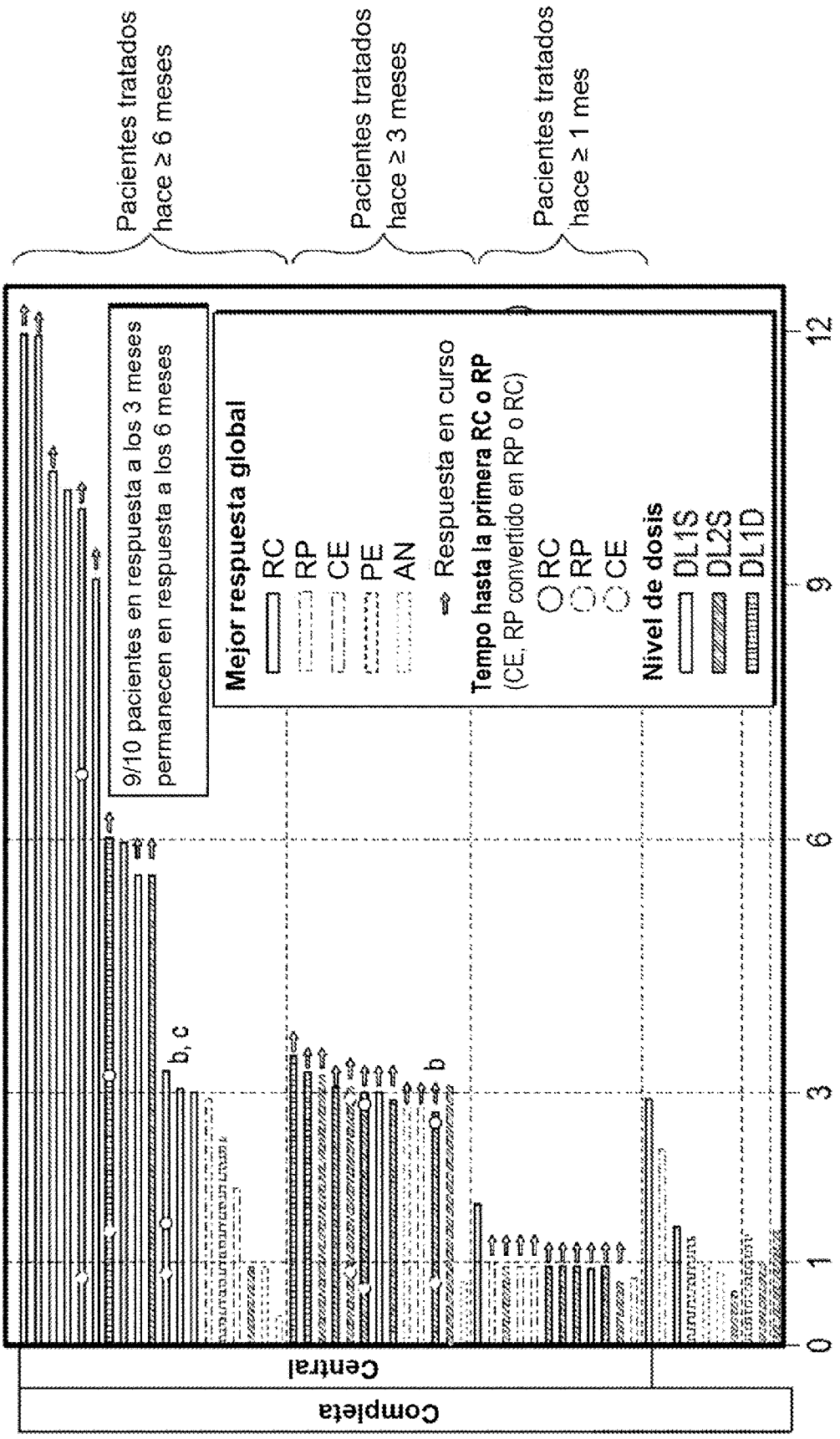

Pacientes tratados hace ≥ 6 meses
Pacientes tratados hace ≥ 3 meses
Pacientes tratados hace ≥ 1 mes
9/10 pacientes en respuesta a los 3 meses permanecen en respuesta a los 6 meses
Mejor respuesta global
RC
RP
CE
PE
AN
Respuesta en curso
Tempo hasta la primera RC o RP
(CE, RP convertido en RP o RC)
RC
RP
CE
Nivel de dosis
DL1S
DL2S
DL1D
b, c
b
Completa
Central
0
1
3
6
9
12
Tempo sin progresión (Meses)

FIG. 9A

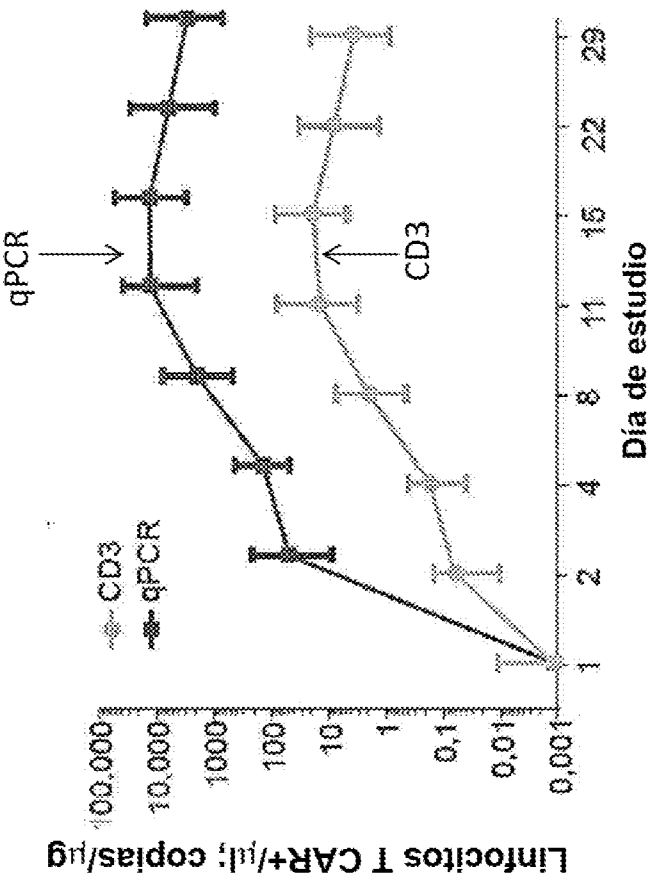

Linfocitos T CAR+/µl; copias/µg
100,000
10,000
1000
100
10
1
0,1
0,01
0,001
CD3
qPCR
qPCR
CD3
1
2
4
8
11
15
22
29
Día de estudio

FIG. 9B

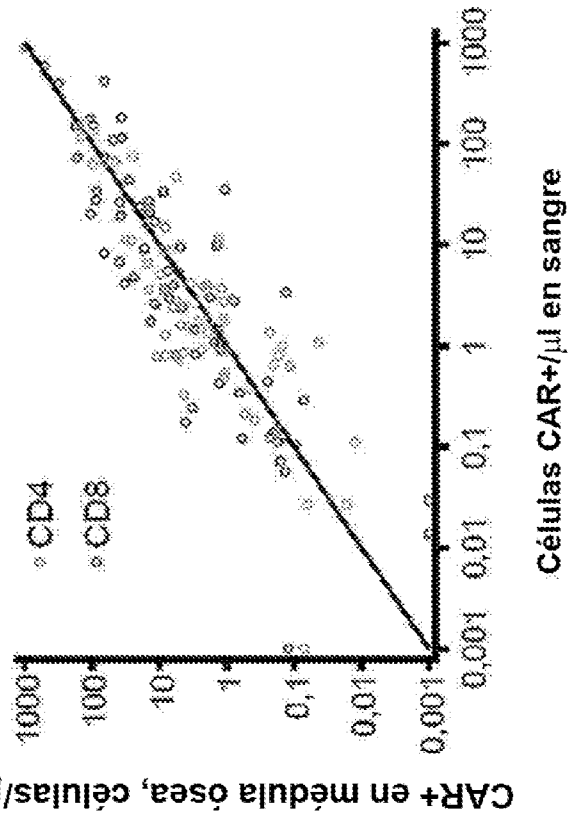

CAR+ en médula ósea, células/µl
1000
100
10
1
0,1
0,01
0,001
CD4
CD8
0,001
0,01
0,1
1
10
100
1000
Células CAR+/µl en sangre

FIG. 10A

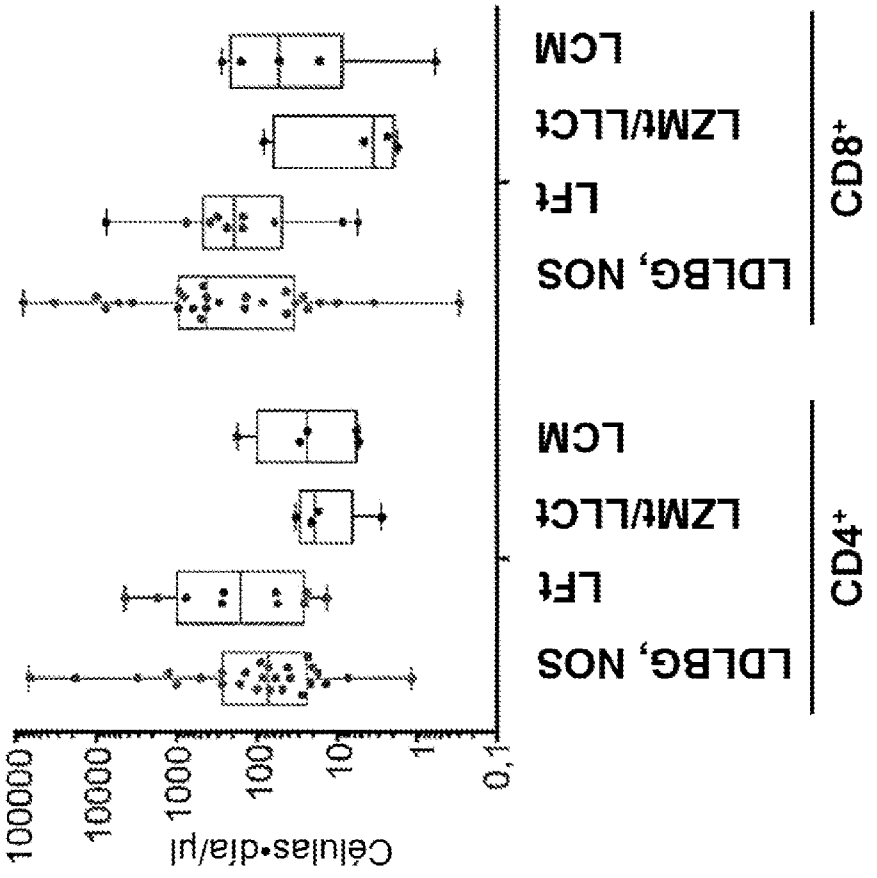


FIG. 10B

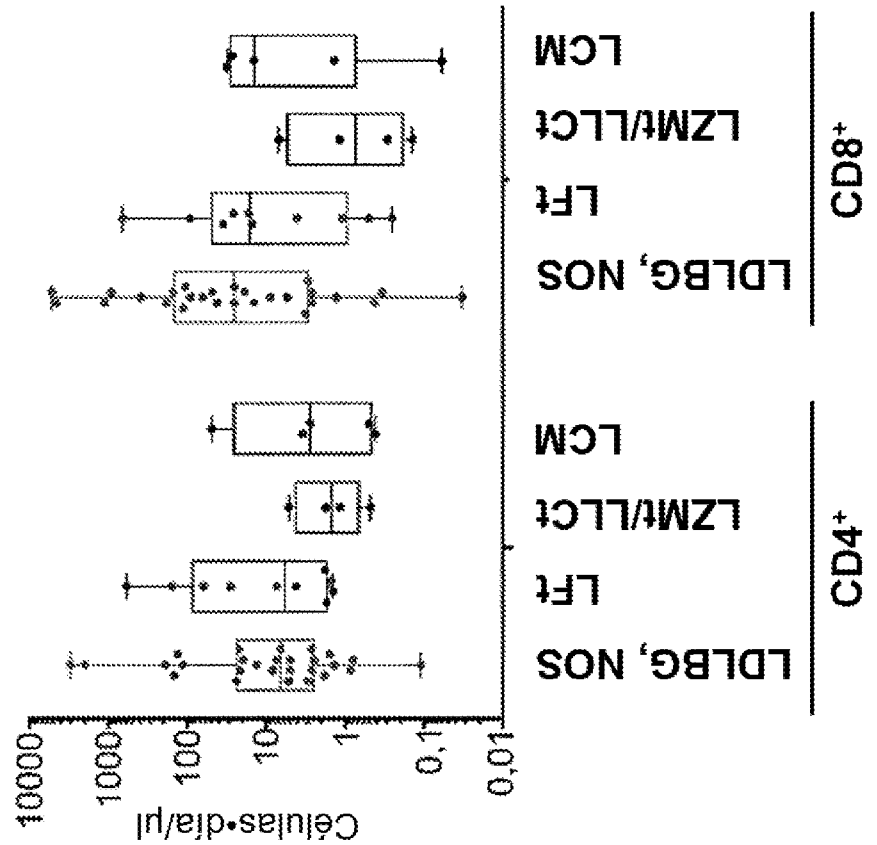
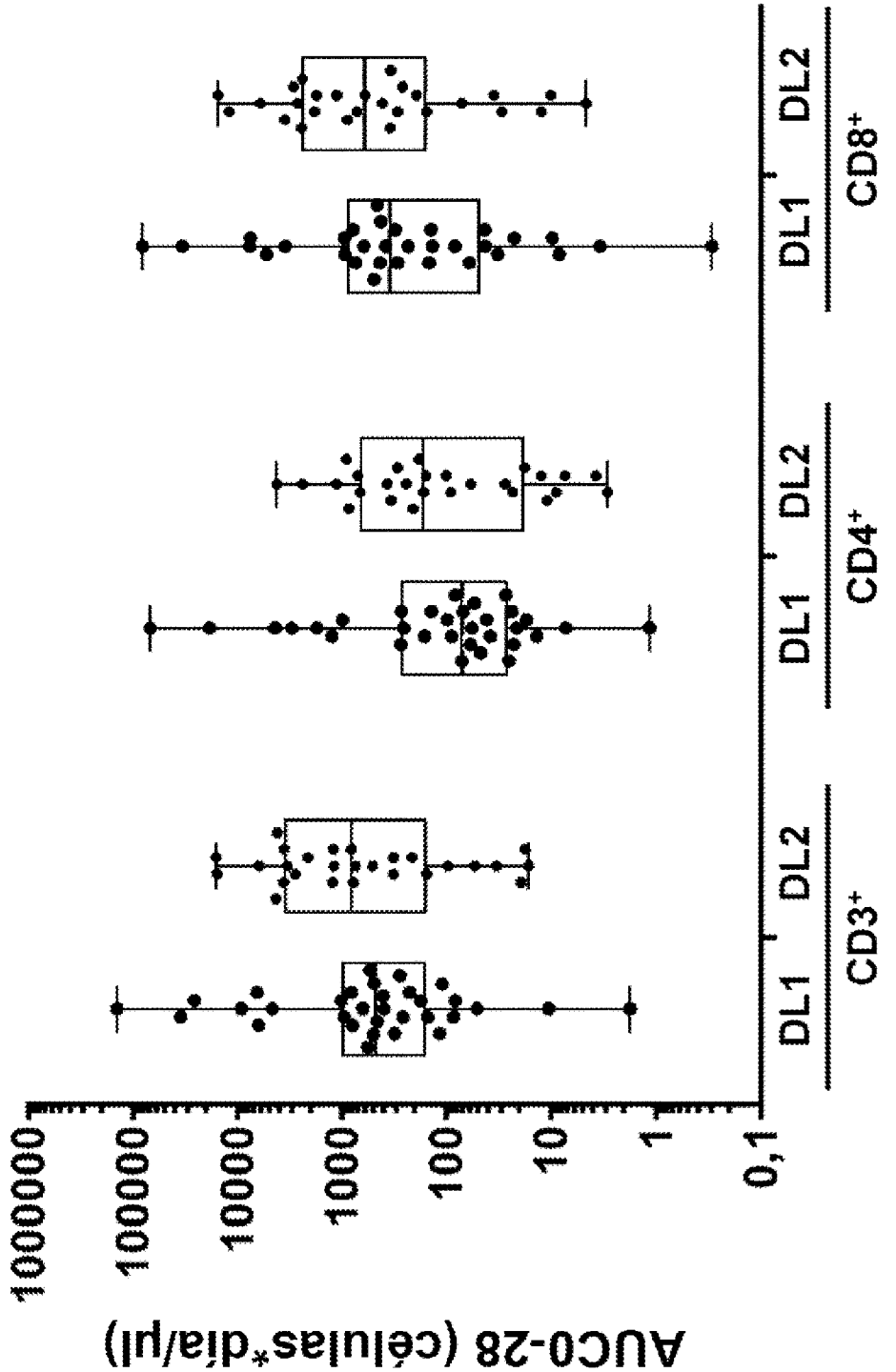


FIG. 11A


ASC0-28 (células*día/µl)
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
0,1
DL1
DL2
CD3+
DL1
DL2
CD4+
DL1
DL2
CD8+

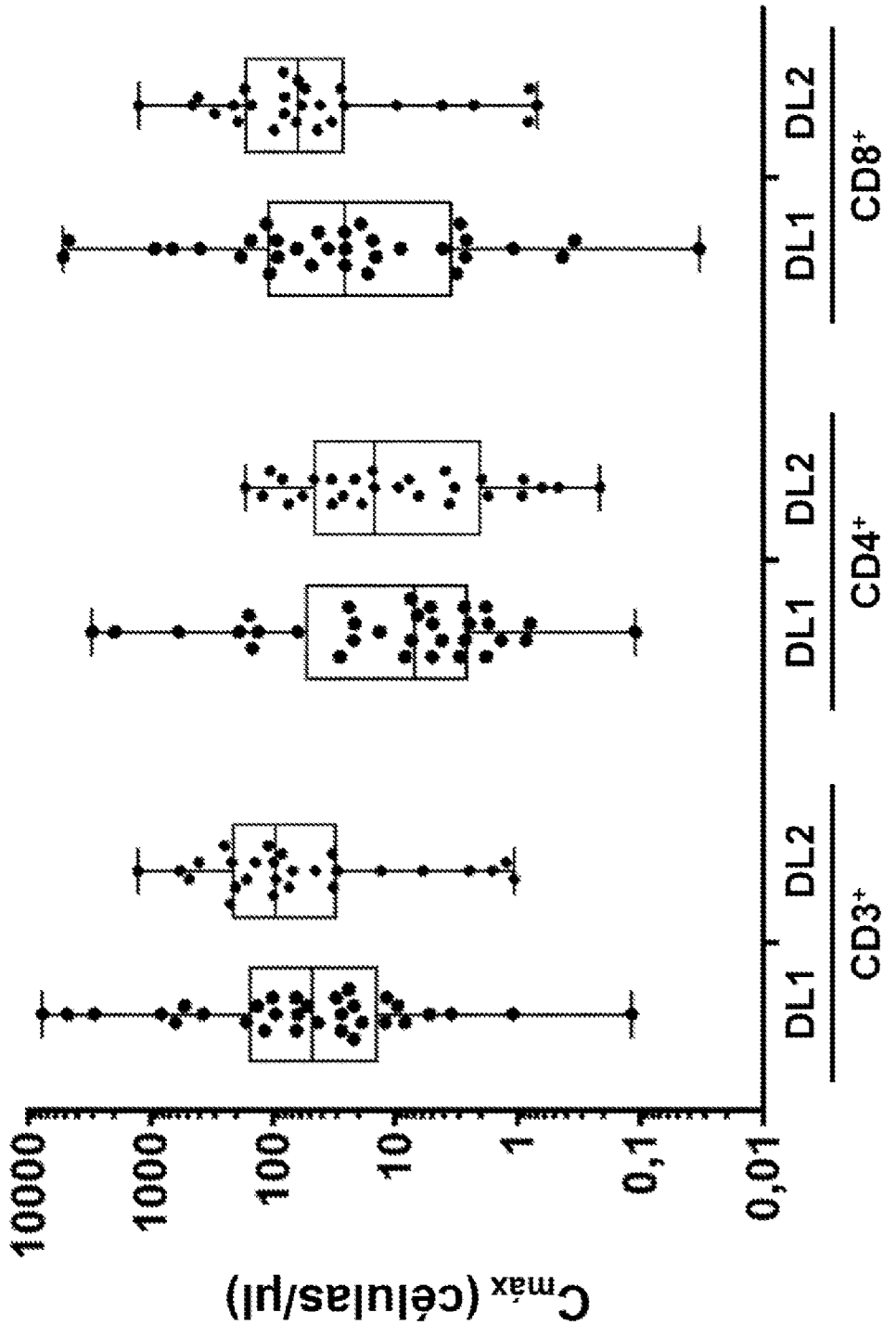

$C_{máx}$ (células/µl)
10000
1000
100
10
1
0,1
0,01
DL1
DL2
CD3+
DL1
DL2
CD4+
DL1
DL2
CD8+

FIG. 11B

FIG. 12A

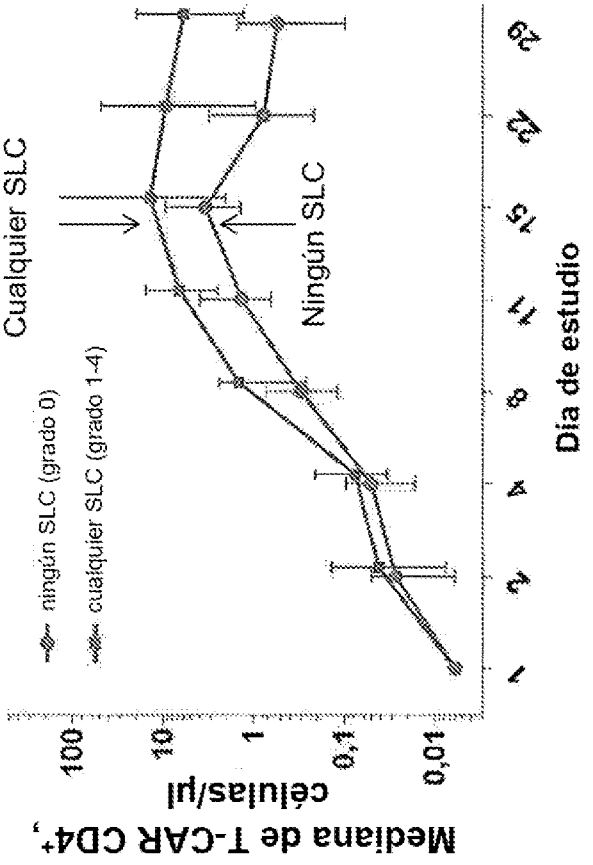


FIG. 12B

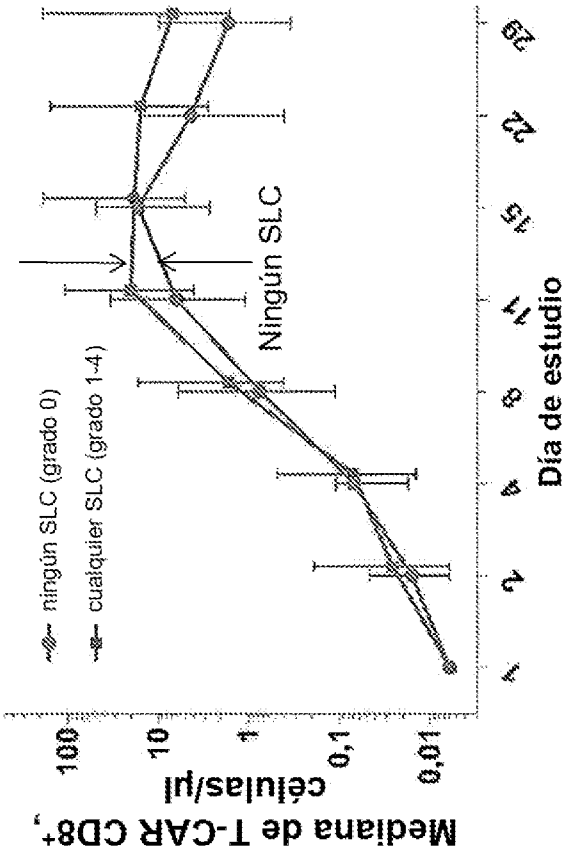


FIG. 12C

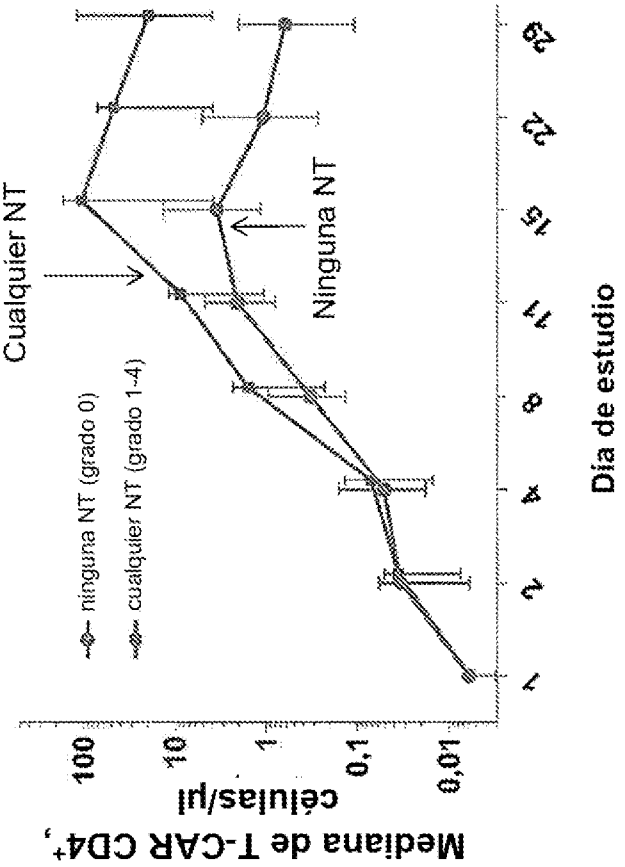
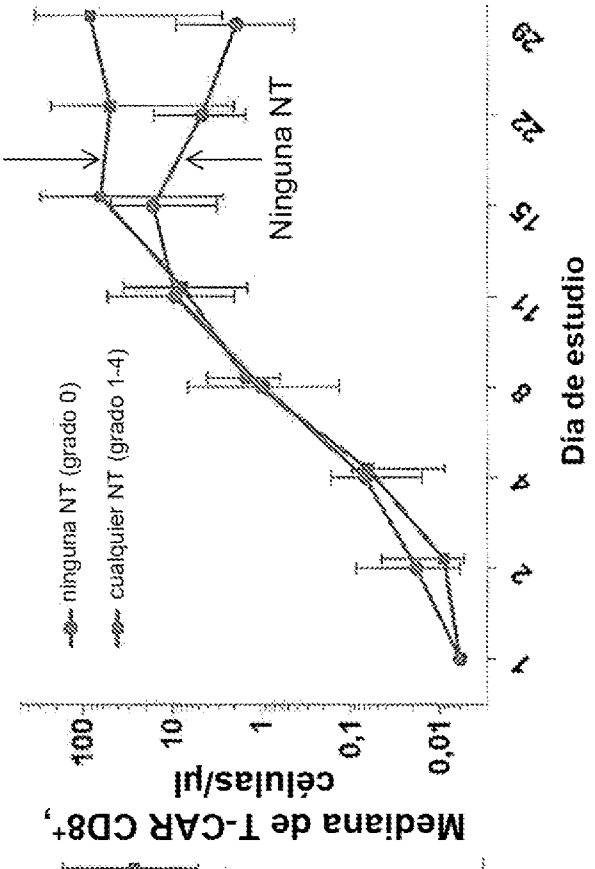


FIG. 12D



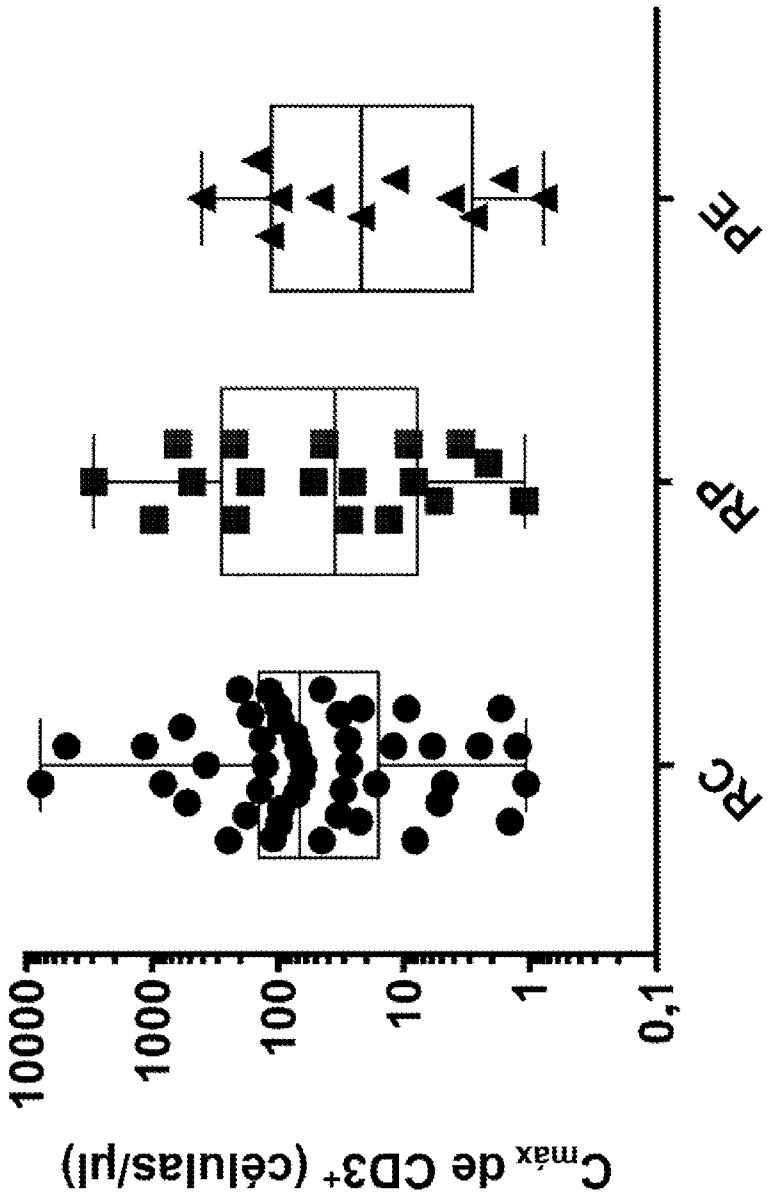


FIG. 13A

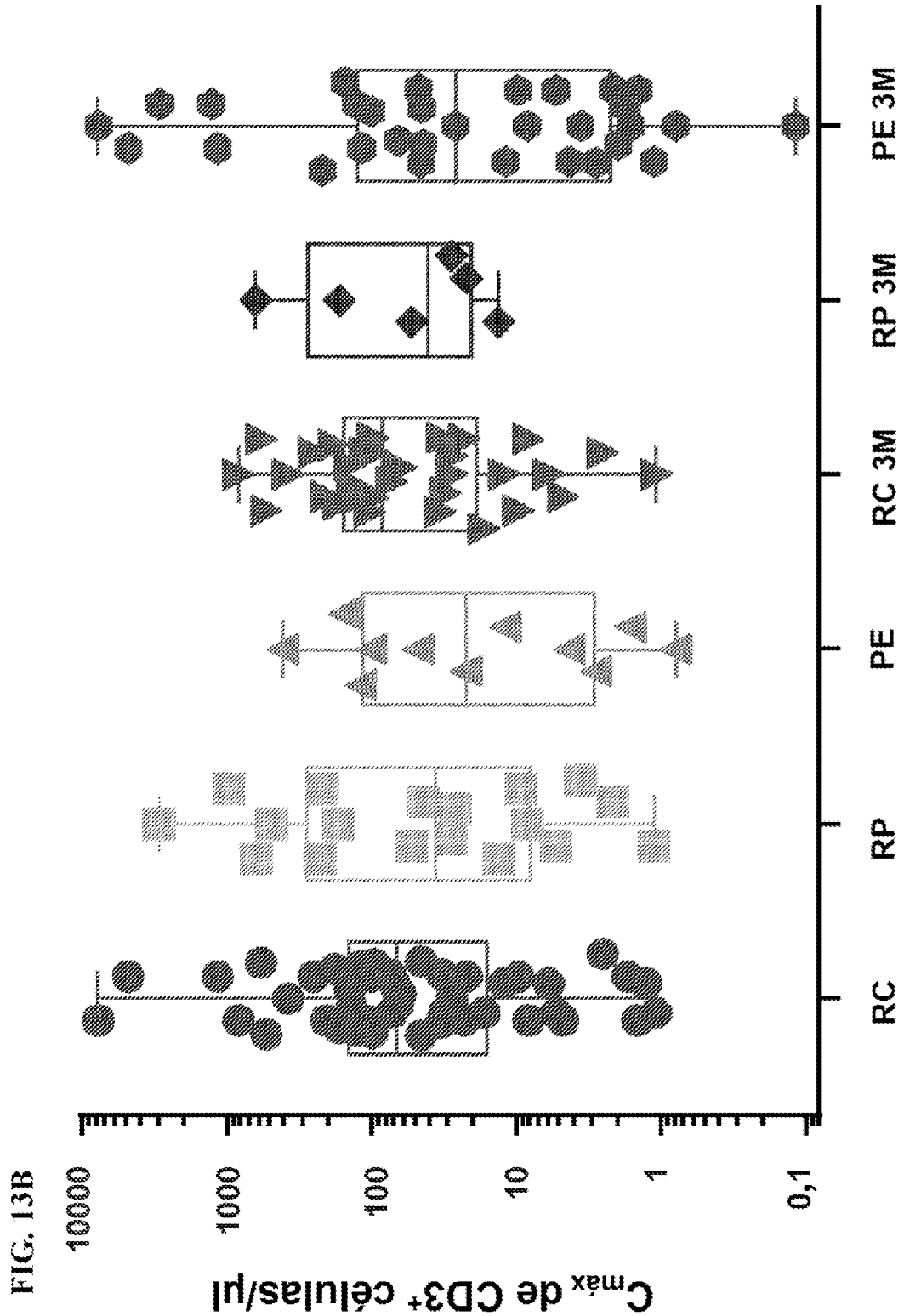

$C_{máx}$ de $CD3^+$ células/µl
10000
1000
100
10
1
0,1
RC
RP
PE
RC 3M
RP 3M
PE 3M

FIG. 13B

FIG. 14A

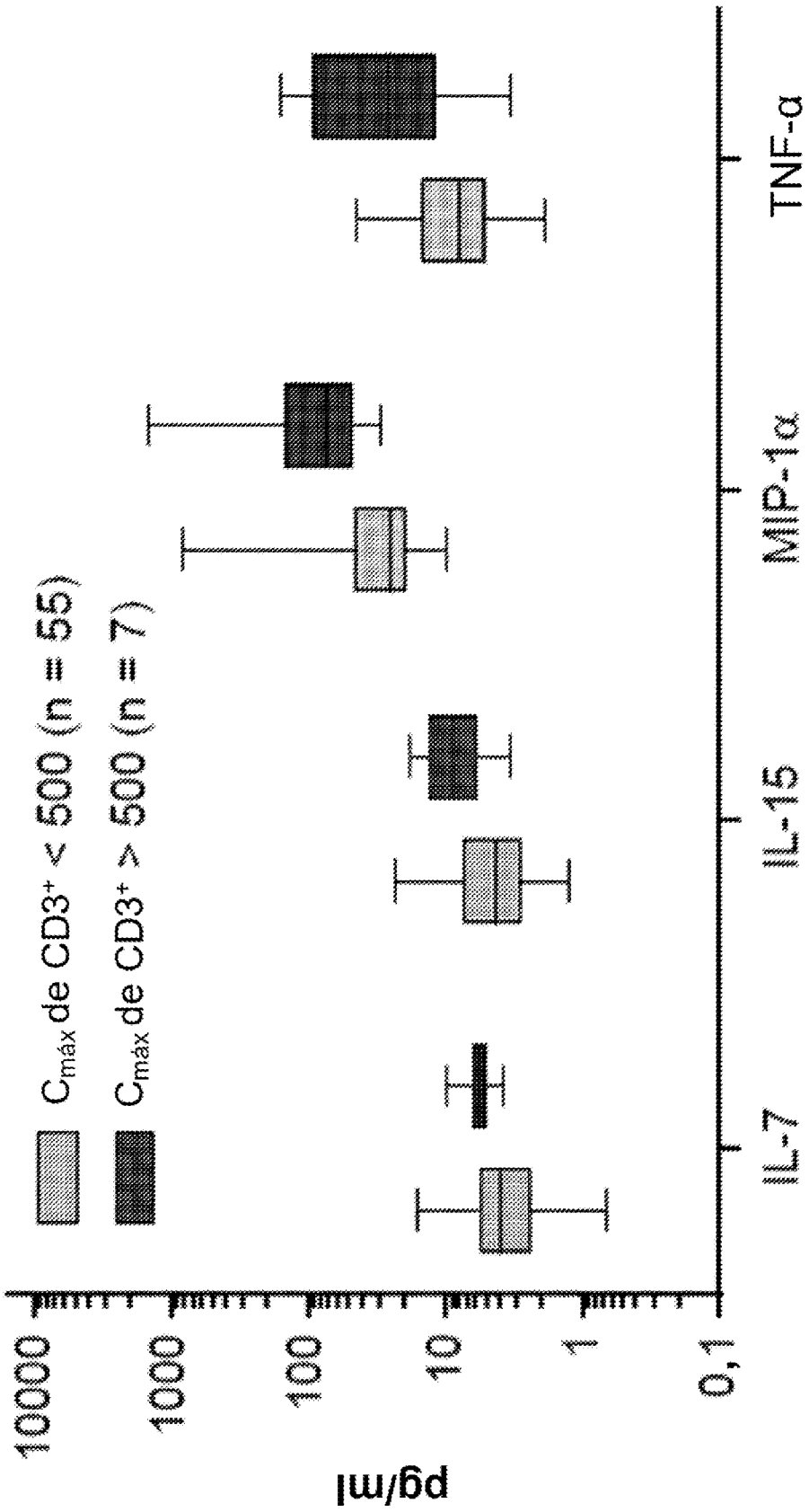

pg/ml
10000
1000
100
10
1
0,1
IL-7
IL-15
MIP-1α
TNF-α
Cmáx de CD3+ < 500 (n = 55)
Cmáx de CD3+ > 500 (n = 7)

FIG. 14B

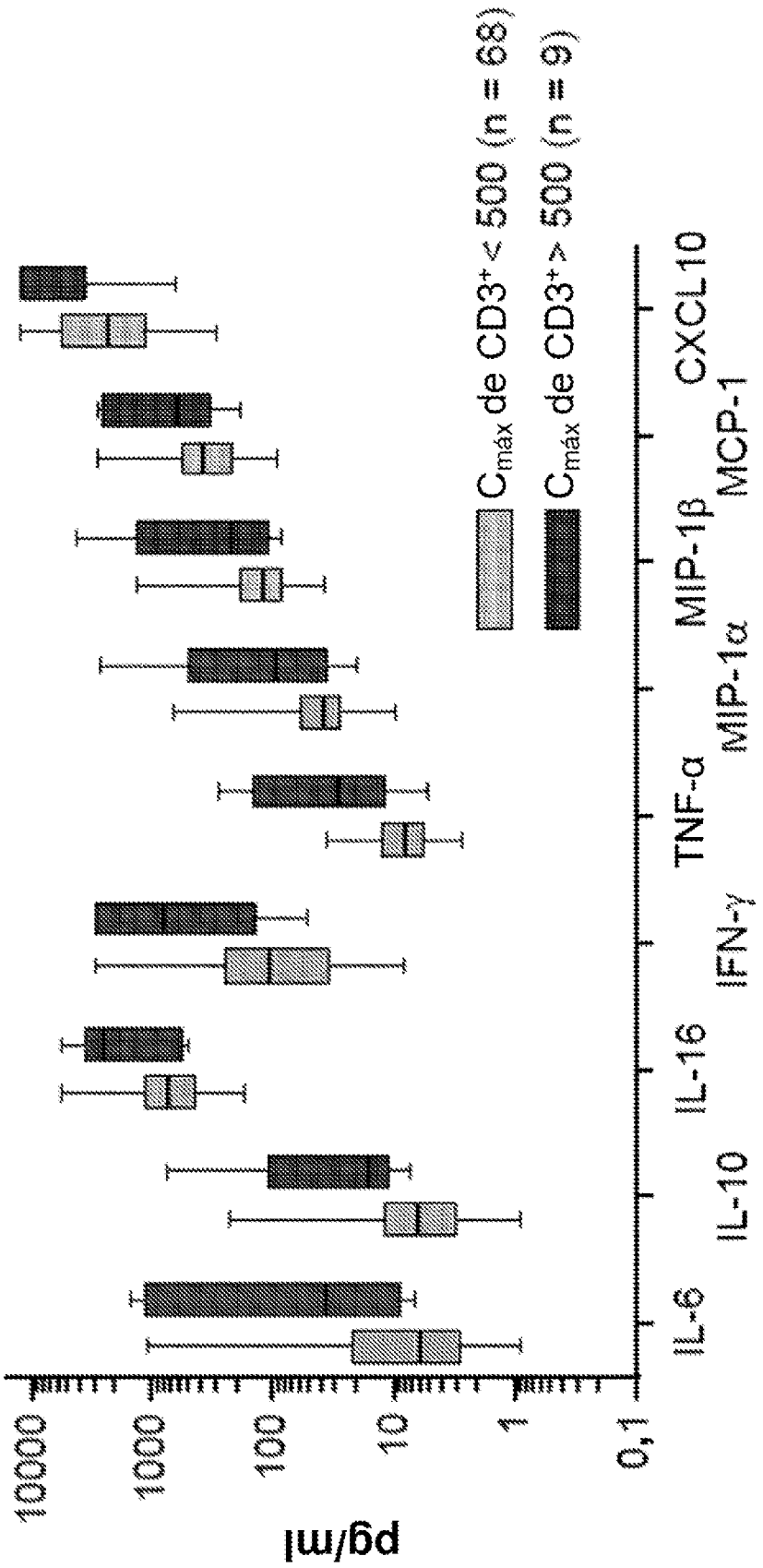

pg/ml
10000
1000
100
10
1
0,1
IL-6
IL-10
IL-16
IFN-γ
TNF-α
MIP-1α
MIP-1β
MCP-1
CXCL10
Cmáx de CD3+ < 500 (n = 68)
Cmáx de CD3+ > 500 (n = 9)

FIG. 15

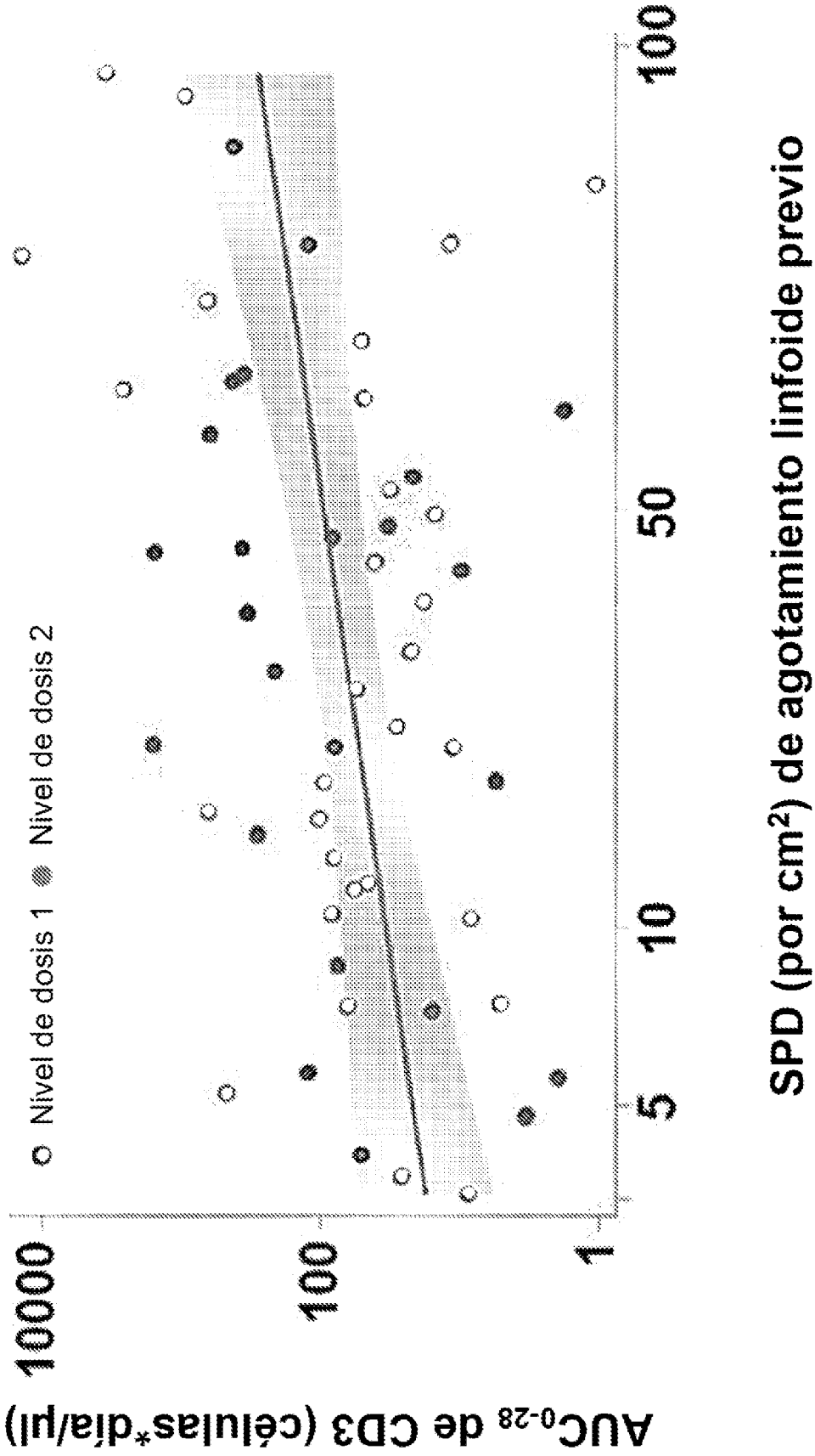

Nivel de dosis 1
Nivel de dosis 2
10000
100
1
1
5
10
50
100
AUC0-28 de CD3 (células*día/µl)
SPD (por cm2) de agotamiento linfoide previo

FIG. 16A

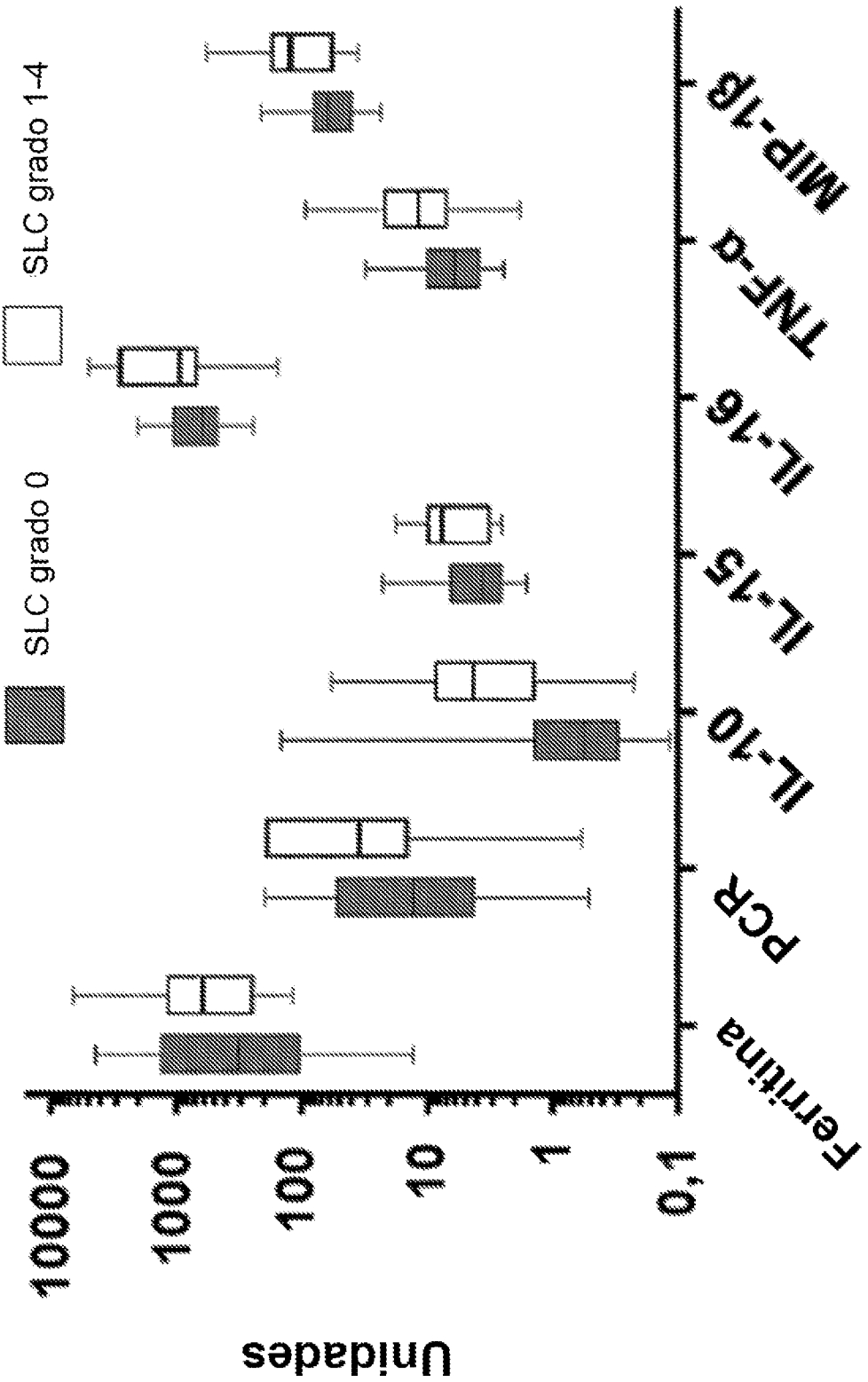

SLC grado 1-4
SLC grado 0
Unidades
10000
1000
100
10
1
0,1
Ferritina
PCR
IL-10
IL-15
IL-16
TNF-α
MIP-1β

FIG. 16B

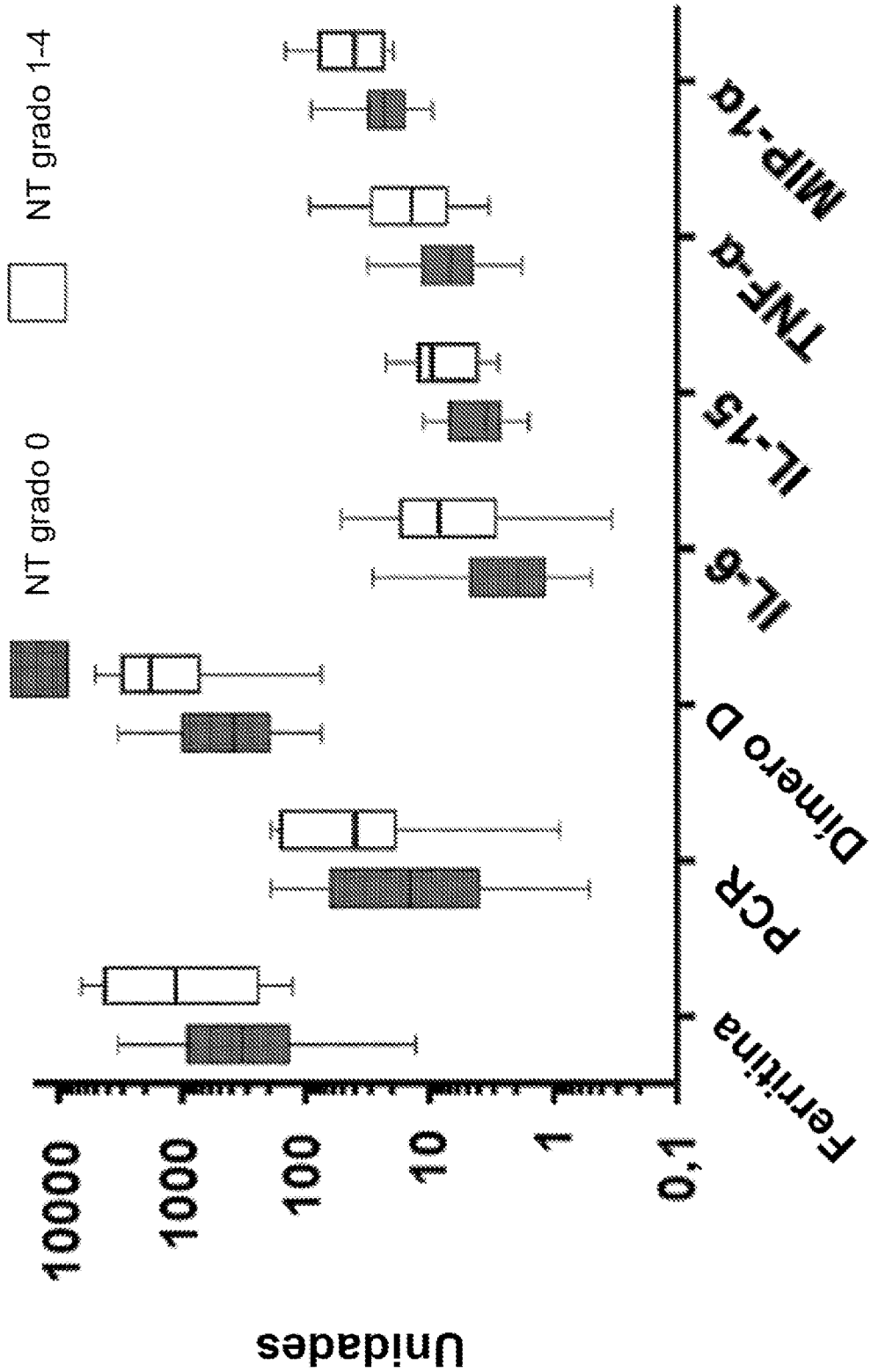

NT grado 0
NT grado 1-4
Unidades
10000
1000
100
10
1
0,1
Ferritina
PCR
Dímero D
IL-6
IL-15
TNF-α
MIP-1α

FIG. 17

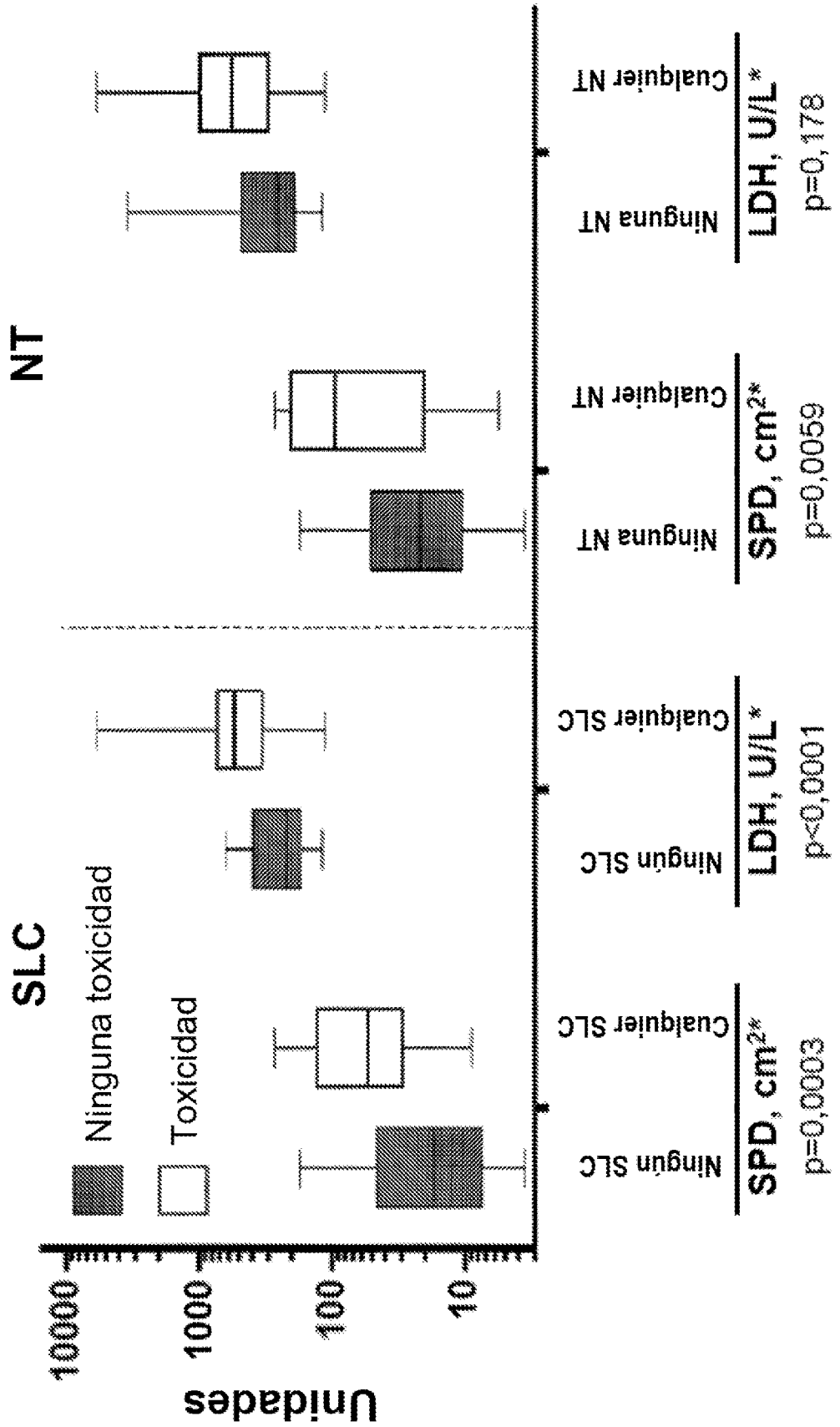
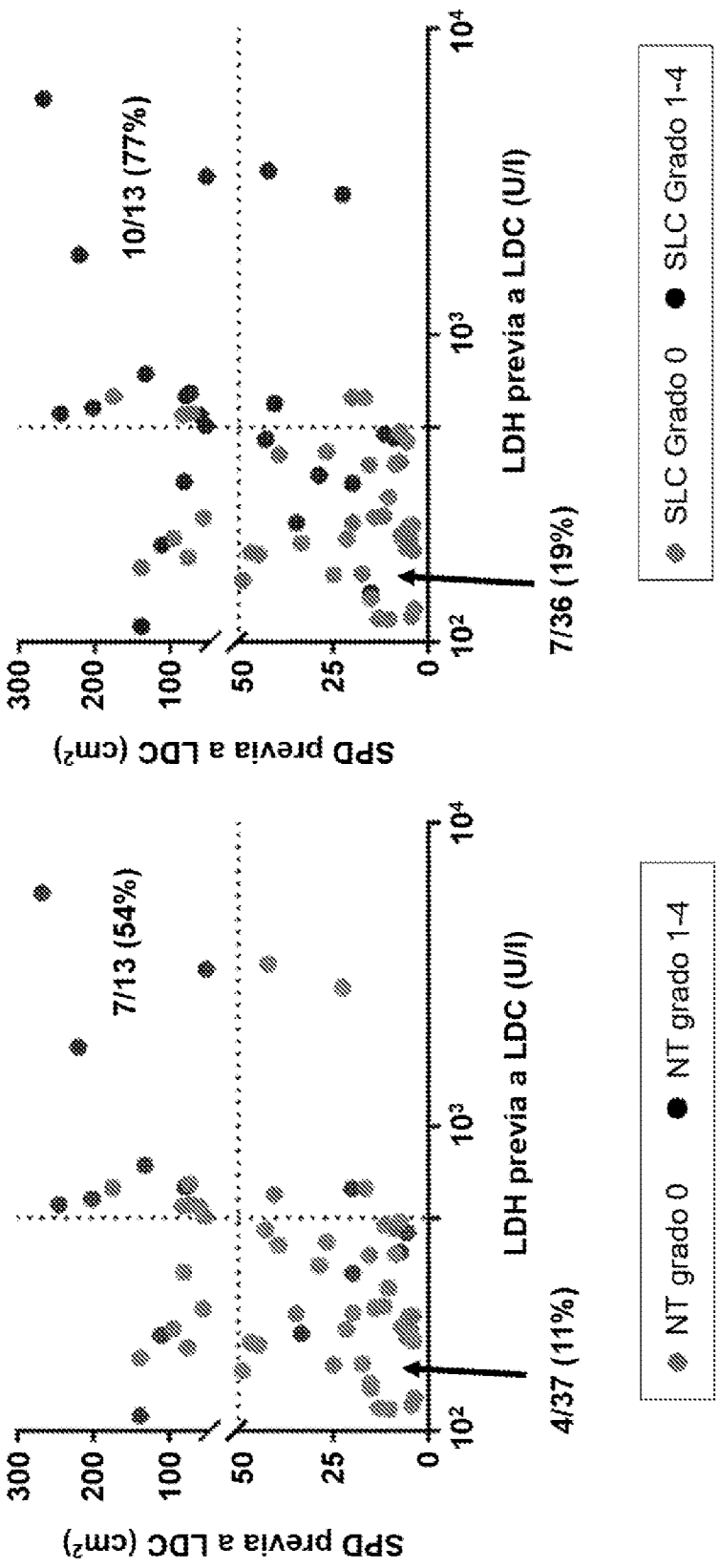

Unidades
10000
1000
100
10
SLC
Ninguna toxicidad
Toxicidad
NT
Ninguna SLC
Cualquier SLC
SPD, cm2*
p=0,0003
Ninguna SLC
Cualquier SLC
LDH, U/L*
p<0,0001
Ninguna NT
Cualquier NT
SPD, cm2*
p=0,0059
Ninguna NT
Cualquier NT
LDH, U/L*
p=0,178

FIG. 18A


SPD previa a LDC (cm²)
300
200
100
50
25
0
10/13 (77%)
7/36 (19%)
LDH previa a LDC (U/l)
10²
10³
10⁴
SLC Grado 0
SLC Grado 1-4
7/13 (54%)
4/37 (11%)
NT grado 0
NT grado 1-4

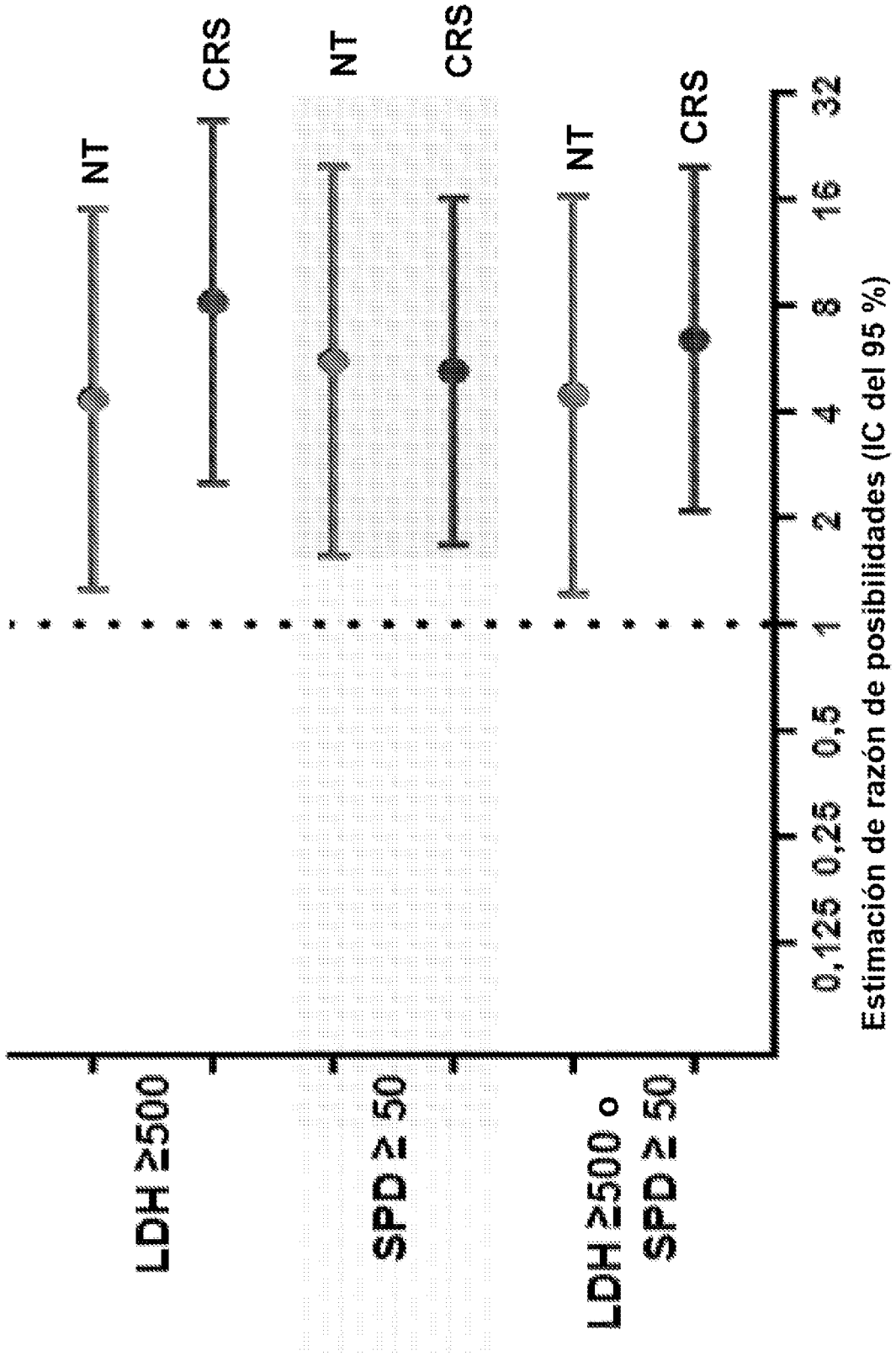

NT
CRS
LDH ≥500
SPD ≥ 50
LDH ≥500 o
SPD ≥ 50
0,125
0,25
0,5
1
2
4
8
16
32
Estimación de razón de posibilidades (IC del 95 %)

FIG. 18B

FIG. 18C

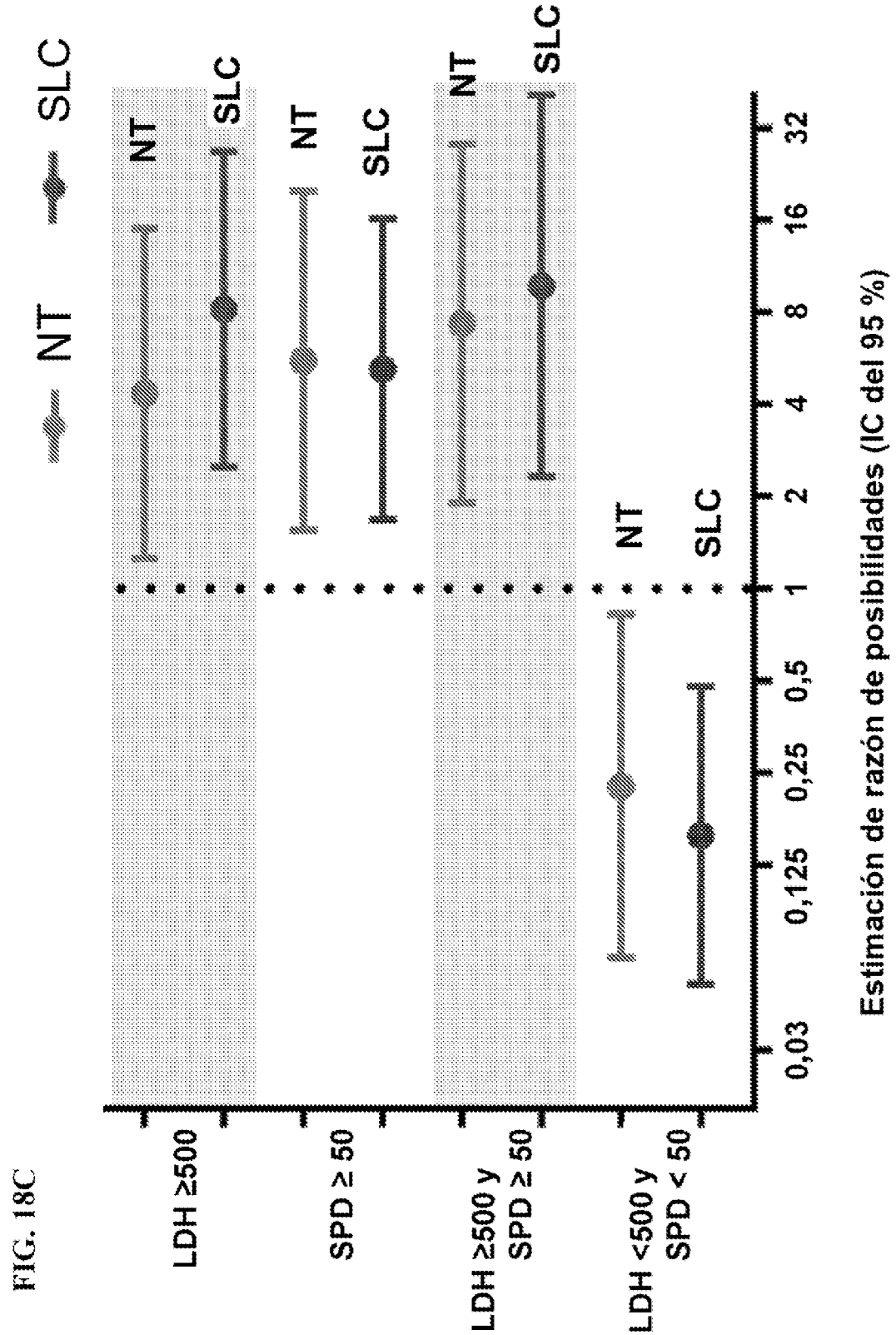

NT
SLC
LDH ≥500
SPD ≥ 50
LDH ≥500 y SPD ≥ 50
LDH <500 y SPD < 50
0,03
0,125
0,25
0,5
1
2
4
8
16
32
Estimación de razón de posibilidades (IC del 95 %)

FIG. 19

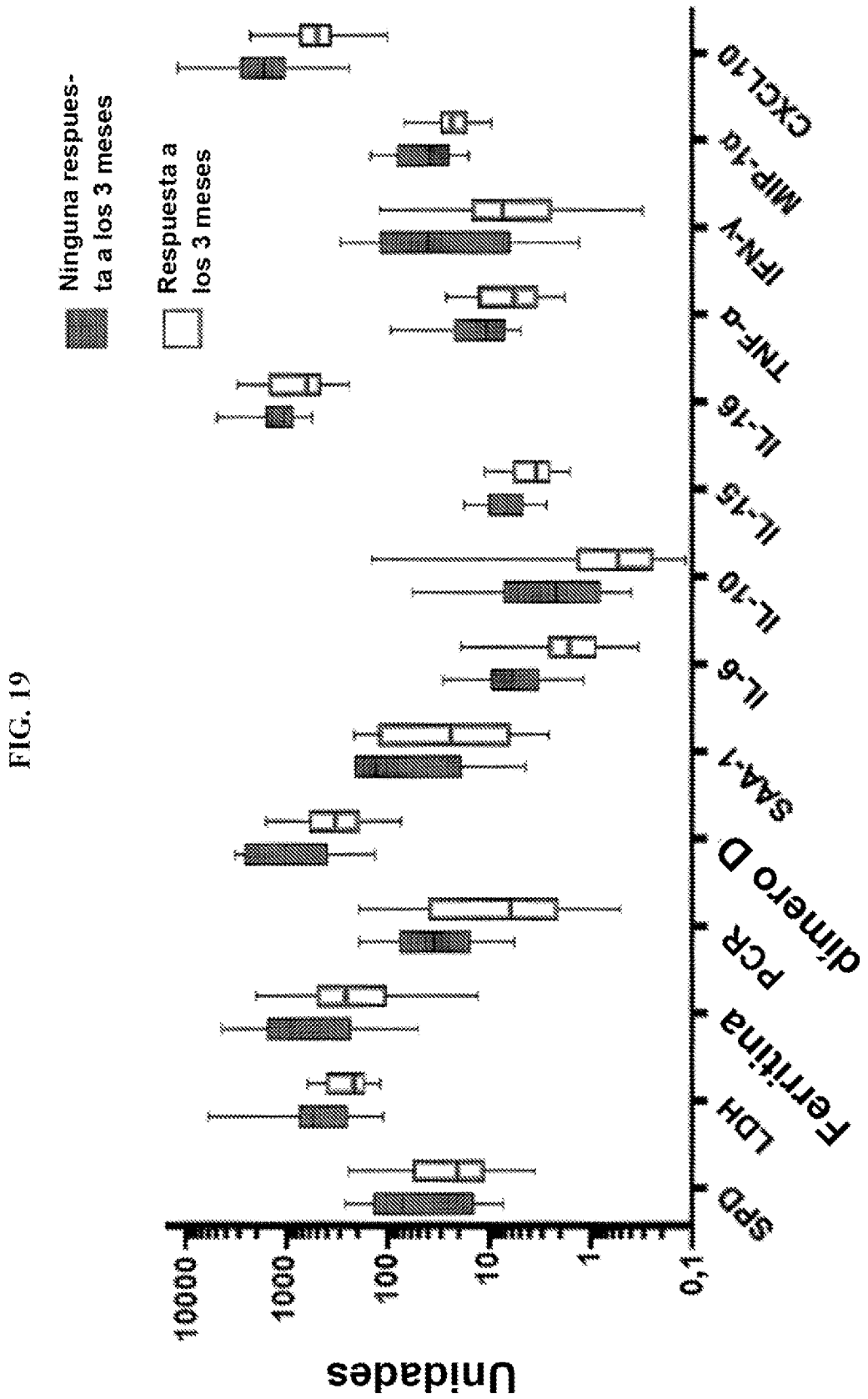

Ninguna respuesta a los 3 meses
Respuesta a los 3 meses
Unidades
10000
1000
100
10
1
0,1
SPD
LDH
Ferritina
PCR
dímero D
SAA-1
IL-6
IL-10
IL-15
IL-16
TNF-α
IFN-γ
MIP-1α
CXCL10

FIG. 20A

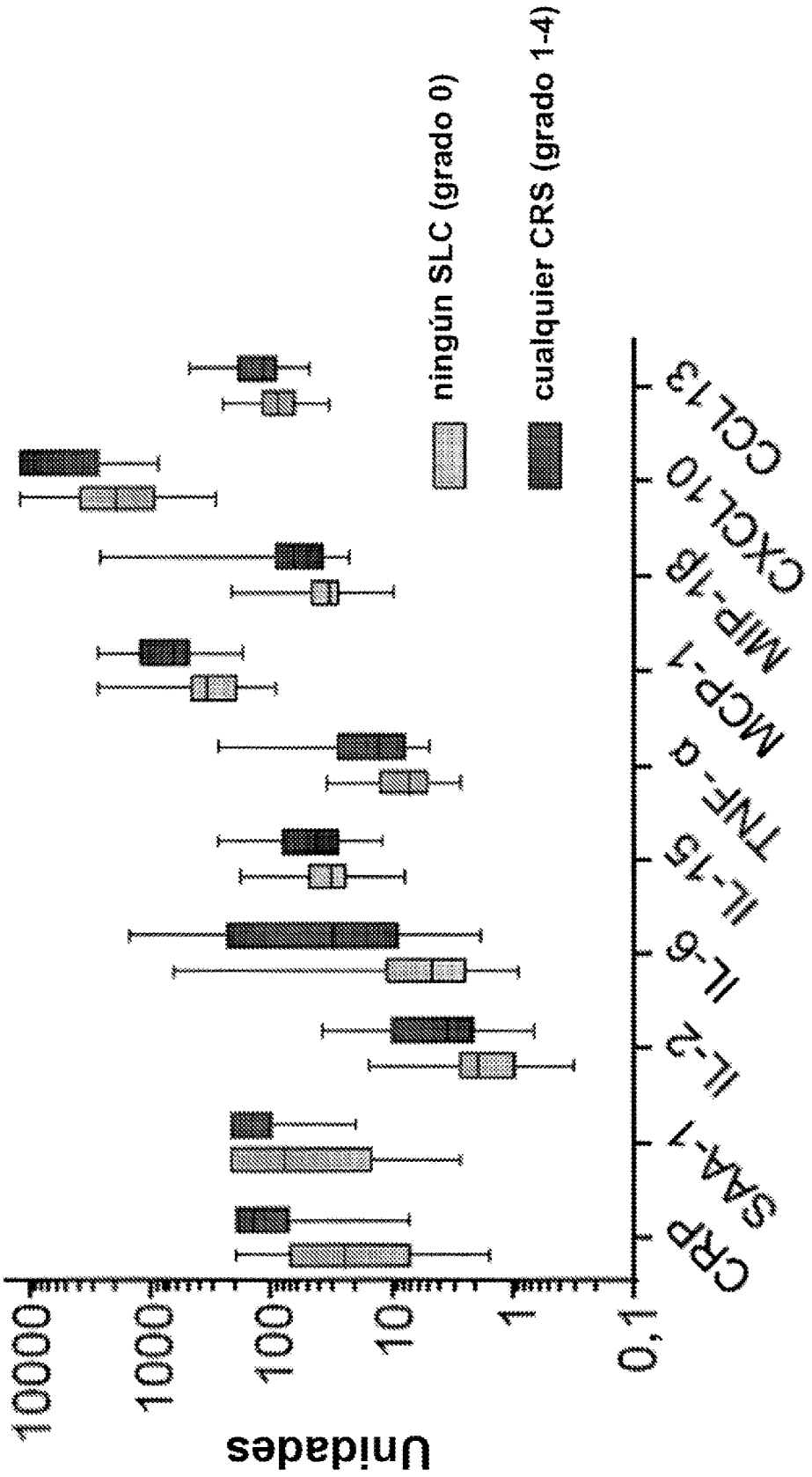

ningún SLC (grado 0)
cualquier CRS (grado 1-4)
Unidades
10000
1000
100
10
1
0,1
CRP
SAA-1
IL-2
IL-6
IL-15
TNF-α
MCP-1
MIP-1β
CXCL10
CCL13

FIG. 20B

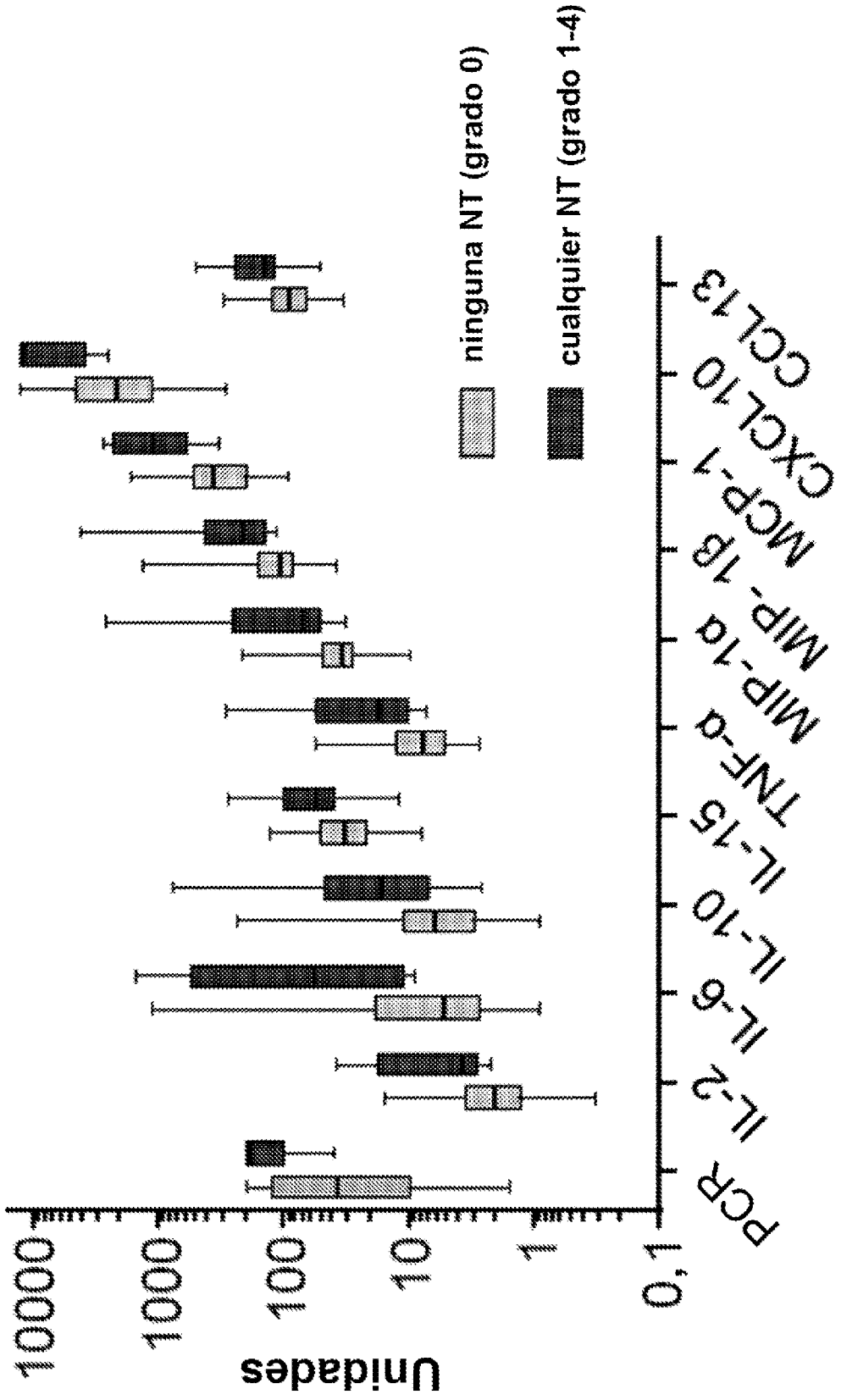

ninguna NT (grado 0)
cualquier NT (grado 1-4)
Unidades
10000
1000
100
10
1
0,1
PCR
IL-2
IL-6
IL-10
IL-15
TNF-a
MIP-1a
MIP-1B
MCP-1
CXCL10
CCL13

FIG. 21A

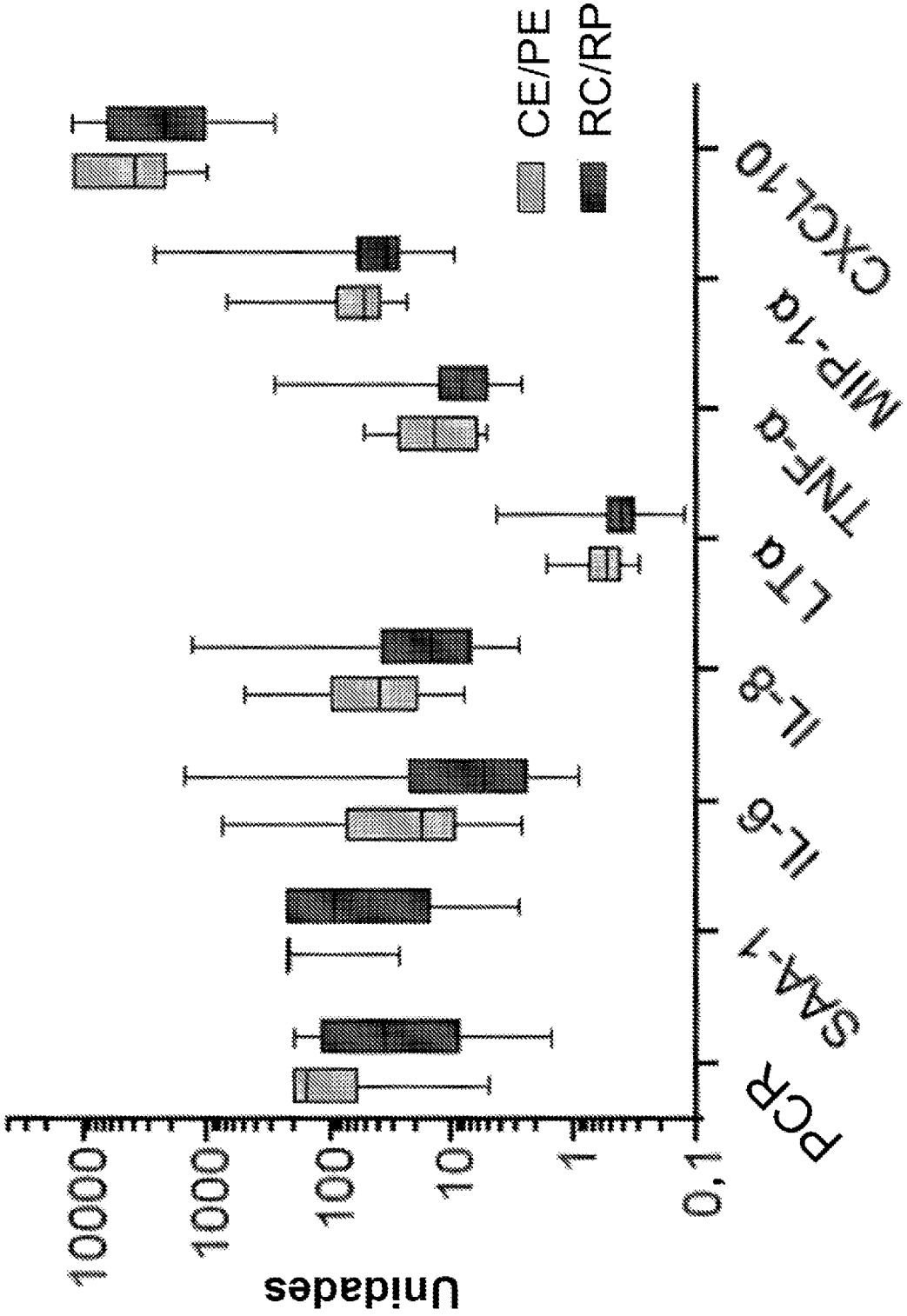

CE/PE
RC/RP
Unidades
10000
1000
100
10
1
0,1
PCR
SAA-1
IL-6
IL-8
LTa
TNF-a
MIP-1a
CXCL10

FIG. 21B

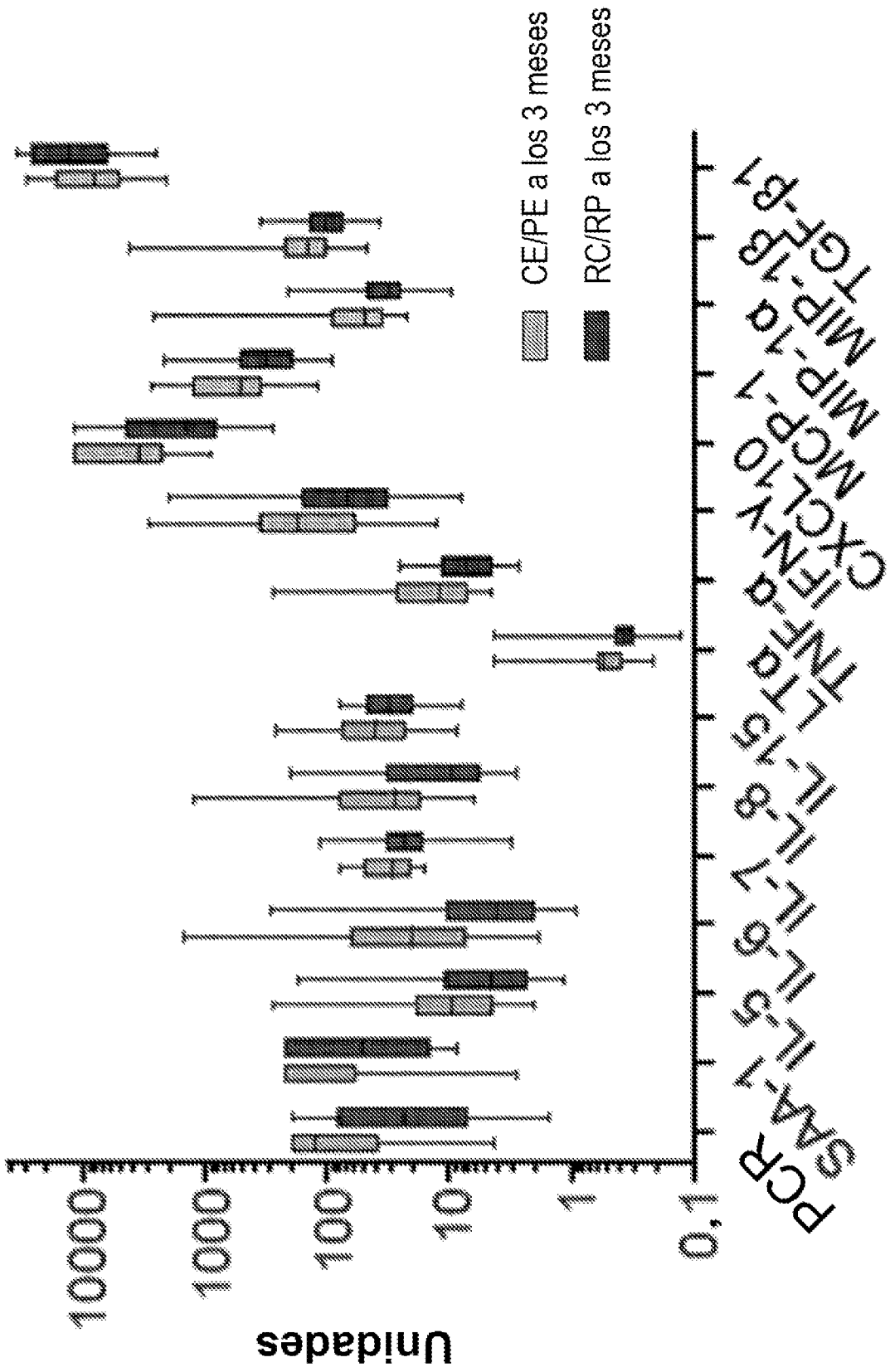

Unidades
10000
1000
100
10
1
0,1
CE/PE a los 3 meses
RC/RP a los 3 meses
PCR
SAA-1
IL-5
IL-6
IL-1β
IL-13
TNFα
IFN-γ
CXCL10
MCP-1
MIP-1α
MIP-1β
TGF-β1

FIG. 22

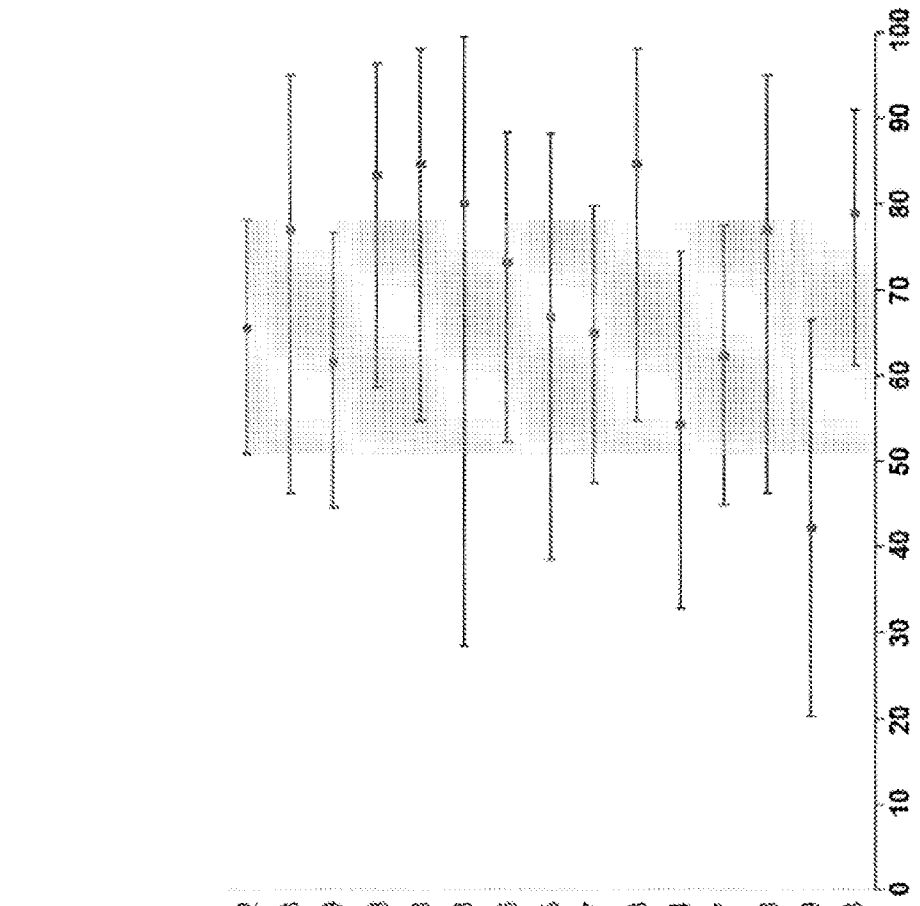

Población
TRO (IC del 95 %)
n
Población de pacientes CENTRAL 65,4 (50,9, 78) 52
LFt 76,9 (46,2, 95) 13
LDLBG NOS 61,5 (44,6, 76,6) 39
Doble/triple impacto o doble expresor 83,3 (58,6, 96,4) 18
Doble/triple impacto 84,6 (54,6, 98,1) 13
Doble expresor 80 (28,4, 99,5) 13
Nunca en RC 73,1 (52,2, 88,4) 26
Sensible a quimioterapia 66,7 (38,4, 88,2) 15
Resistente a quimioterapia 64,9 (47,5, 79,8) 37
Recaída < 12 meses del TCMA 84,6 (54,6, 98,1) 13
CE/PE hasta la última quimioterapia 54,2 (32,8, 74,4) 24
Estadio 3/4 62,2 (44,8, 77,5) 37
Estadio 1/2 76,9 (46,2, 95) 13
IPI 3-5 42,1 (20,3, 66,5) 19
IPI 0-2 78,8 (61,1, 91) 33
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
TRO M3 (IC del 95 %)

FIG. 23A

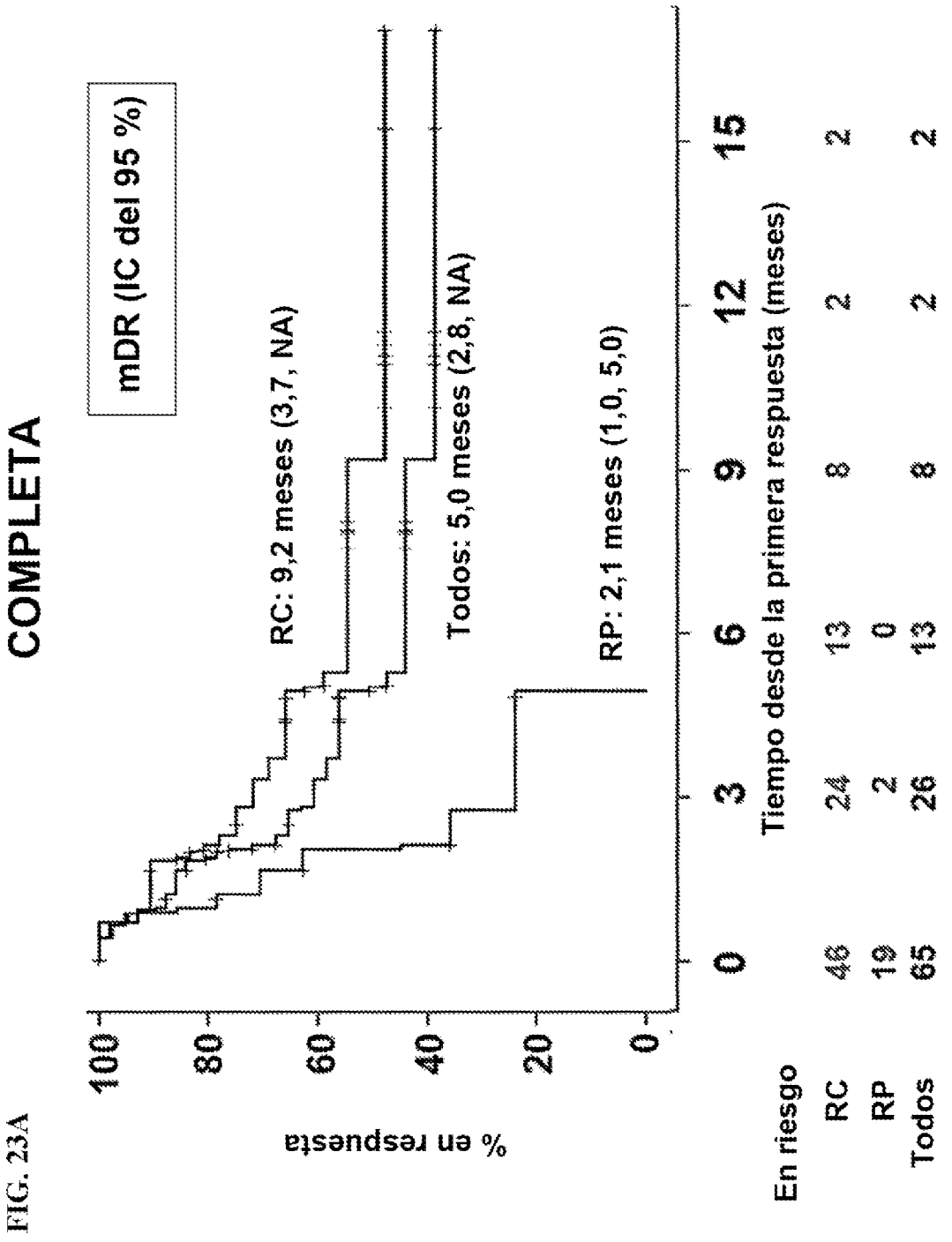

COMPLETA
mDR (IC del 95 %)
RC: 9,2 meses (3,7, NA)
Todos: 5,0 meses (2,8, NA)
RP: 2,1 meses (1,0, 5,0)
% en respuesta
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
Tiempo desde la primera respuesta (meses)
En riesgo
RC 46 24 13 8 2 2
RP 19 2 0
Todos 65 26 13 8 2 2

FIG. 23B

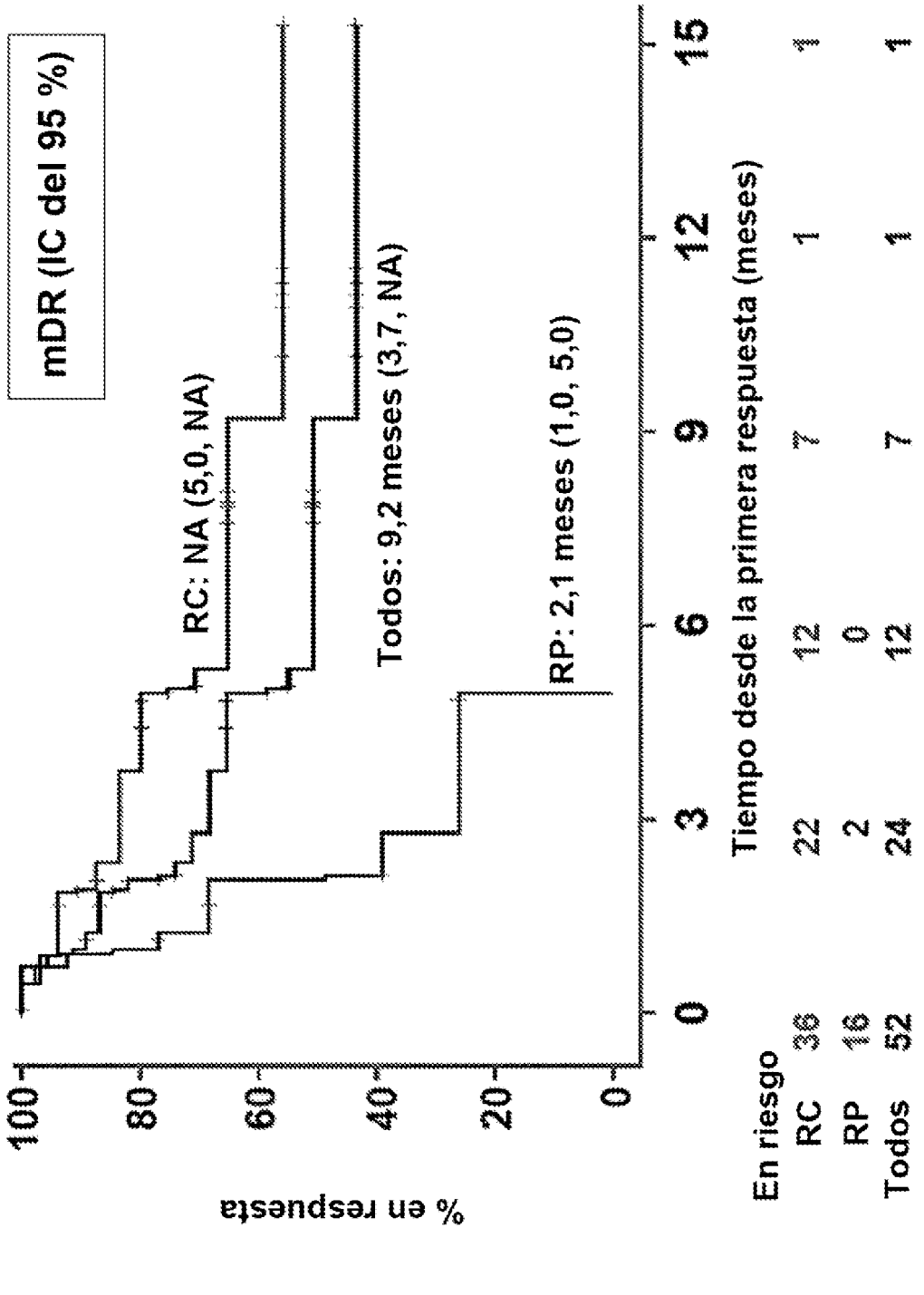

CENTRAL
mDR (IC del 95 %)
RC: NA (5,0, NA)
Todos: 9,2 meses (3,7, NA)
RP: 2,1 meses (1,0, 5,0)
% en respuesta
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
Tiempo desde la primera respuesta (meses)
En riesgo
RC 36 22 12 7 1 1
RP 16 2 0
Todos 52 24 12 7 1 1

FIG. 23C

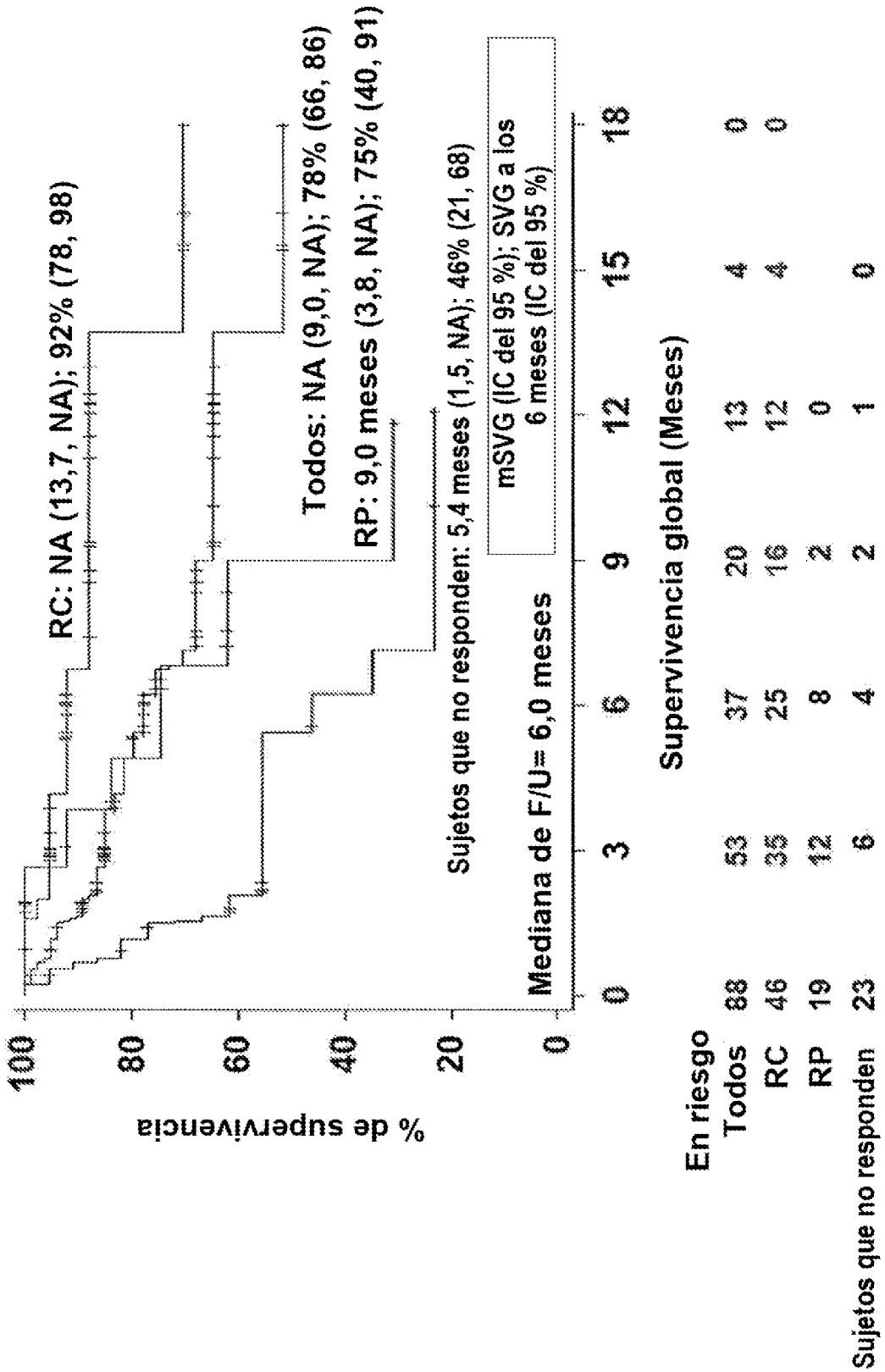

COMPLETA
RC: NA (13,7, NA); 92% (78, 98)
Todos: NA (9,0, NA); 78% (66, 86)
RP: 9,0 meses (3,8, NA); 75% (40, 91)
Sujetos que no responden: 5,4 meses (1,5, NA); 46% (21, 68)
mSVG (IC del 95 %); SVG a los 6 meses (IC del 95 %)
Mediana de F/U= 6,0 meses
% de supervivencia
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
15
18
Supervivencia global (Meses)
En riesgo
Todos 88 53 37 20 13 4 0
RC 46 35 25 16 12 4 0
RP 19 12 8 2 0
Sujetos que no responden 23 6 4 2 1 0

FIG. 23D

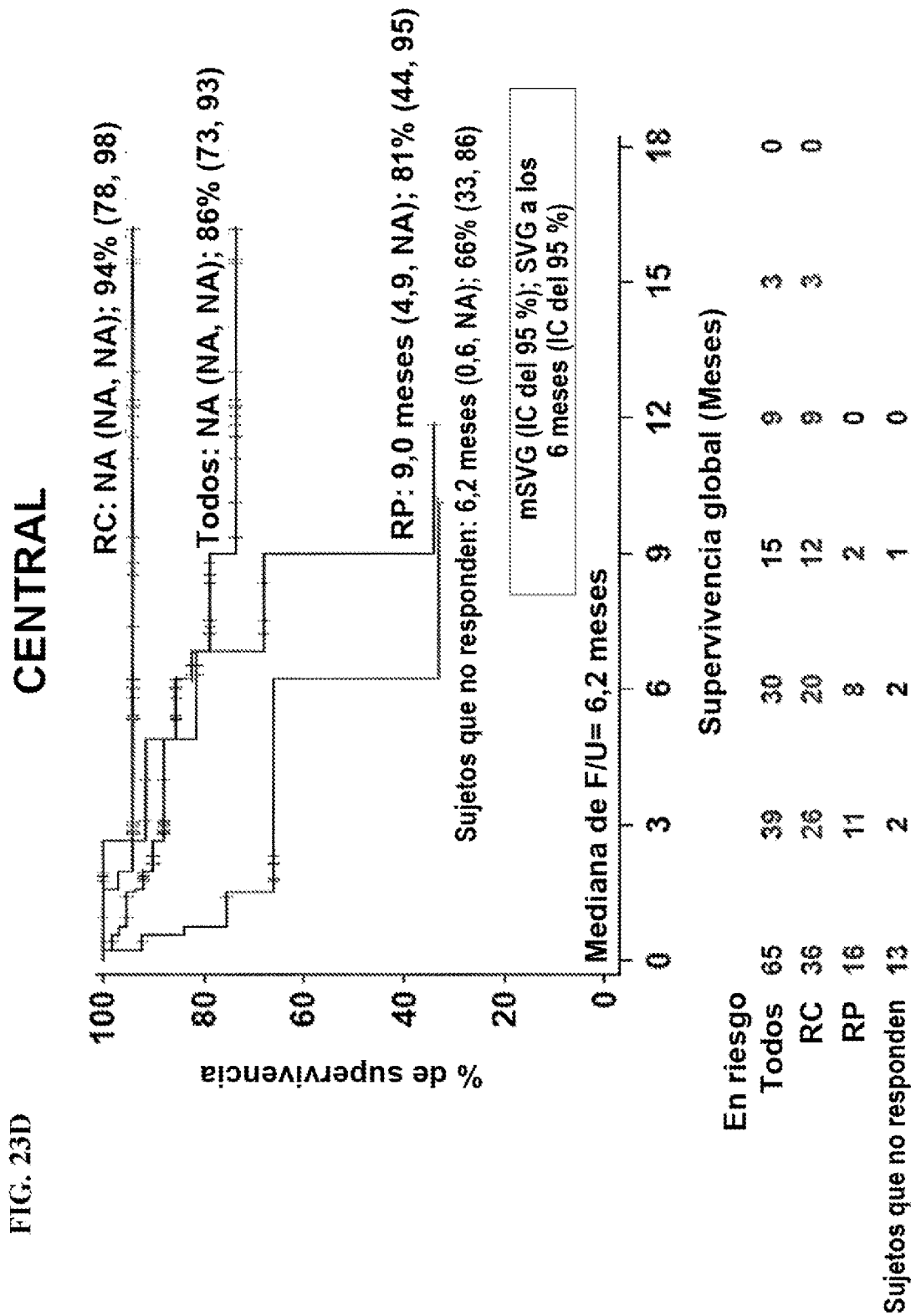

CENTRAL
RC: NA (NA, NA); 94% (78, 98)
Todos: NA (NA, NA); 86% (73, 93)
RP: 9,0 meses (4,9, NA); 81% (44, 95)
Sujetos que no responden: 6,2 meses (0,6, NA); 66% (33, 86)
mSVG (IC del 95 %); SVG a los 6 meses (IC del 95 %)
% de supervivencia
100
80
60
40
20
0
Mediana de F/U= 6,2 meses
0 3 6 9 12 15 18
Supervivencia global (Meses)
En riesgo
Todos 65 39 30 15 9 3 0
RC 36 26 20 12 9 3 0
RP 16 11 8 2 0
Sujetos que no responden 13 2 2 1 0

FIG. 24

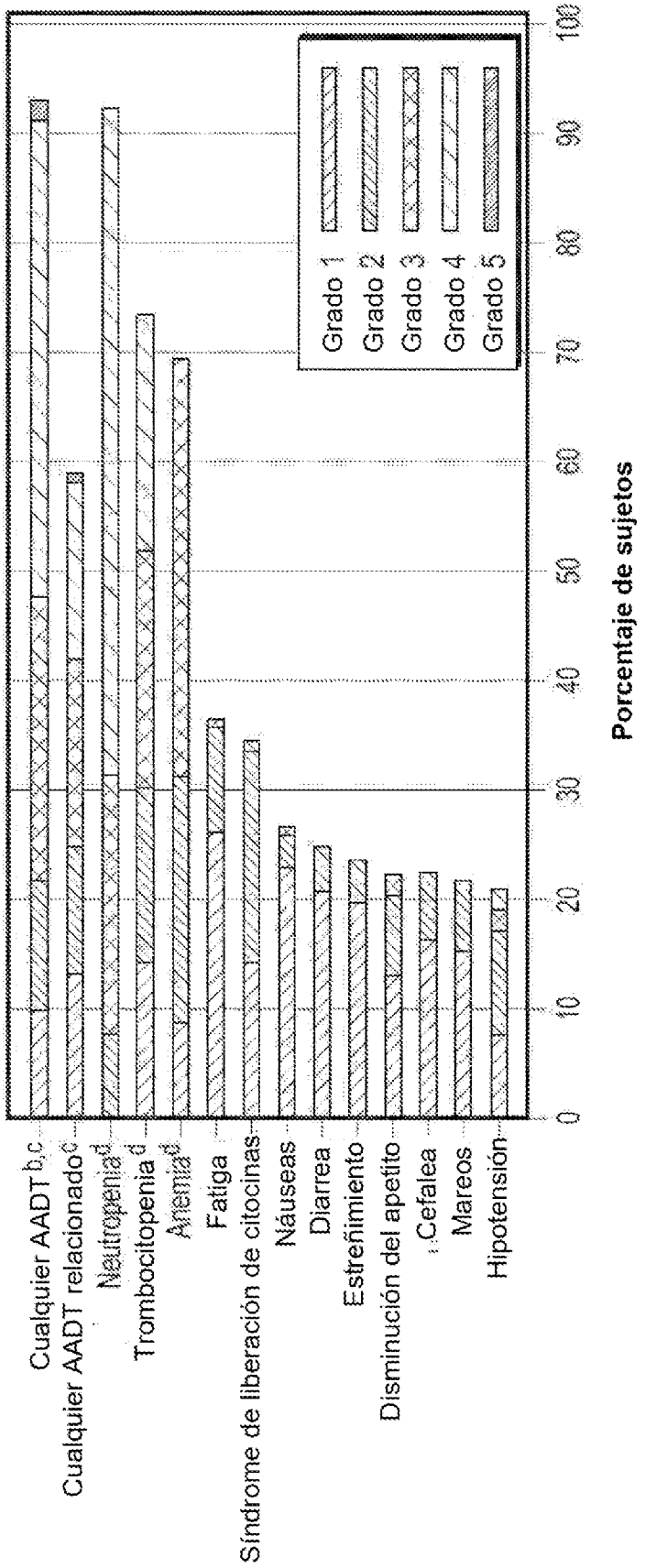
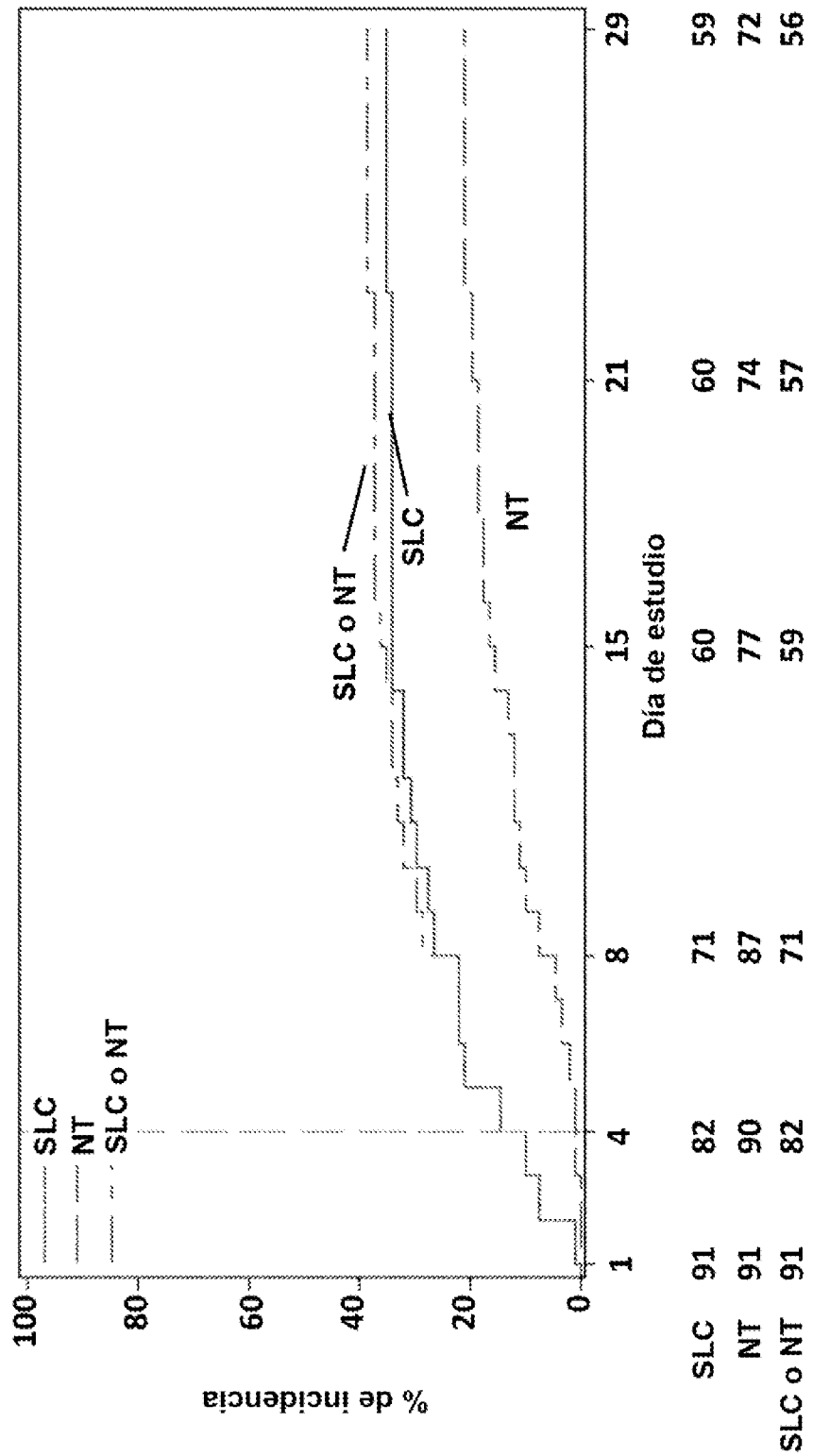

Cualquier AADT b,c
Cualquier AADT relacionado c
Neutropenia d
Trombocitopenia d
Anemia d
Fatiga
Síndrome de liberación de citocinas
Náuseas
Diarrea
Estreñimiento
Disminución del apetito
Cefalea
Mareos
Hipotensión
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Porcentaje de sujetos
Grado 1
Grado 2
Grado 3
Grado 4
Grado 5

FIG. 25


SLC
NT
SLC o NT
100
80
60
40
20
0
% de incidencia
SLC o NT
SLC
NT
1
4
8
15
21
29
Día de estudio
SLC 91 82 71 60 60 59
NT 91 90 87 77 74 72
SLC o NT 91 82 71 59 57 56

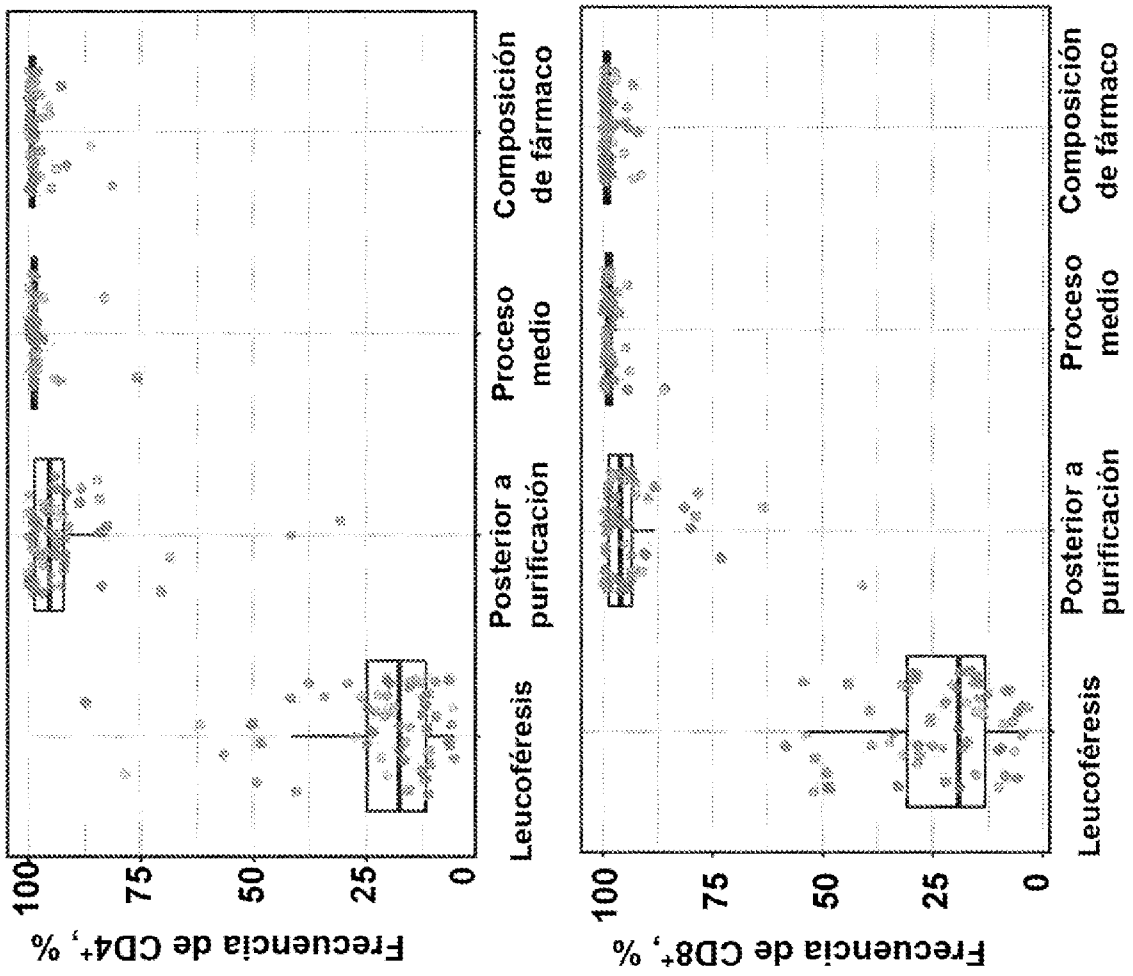

Frecuencia de CD4+, %
100
75
50
25
0
Leucoféresis
Posterior a purificación
Proceso medio
Composición de fármaco
Frecuencia de CD8+, %
100
75
50
25
0
Leucoféresis
Posterior a purificación
Proceso medio
Composición de fármaco

FIG. 26

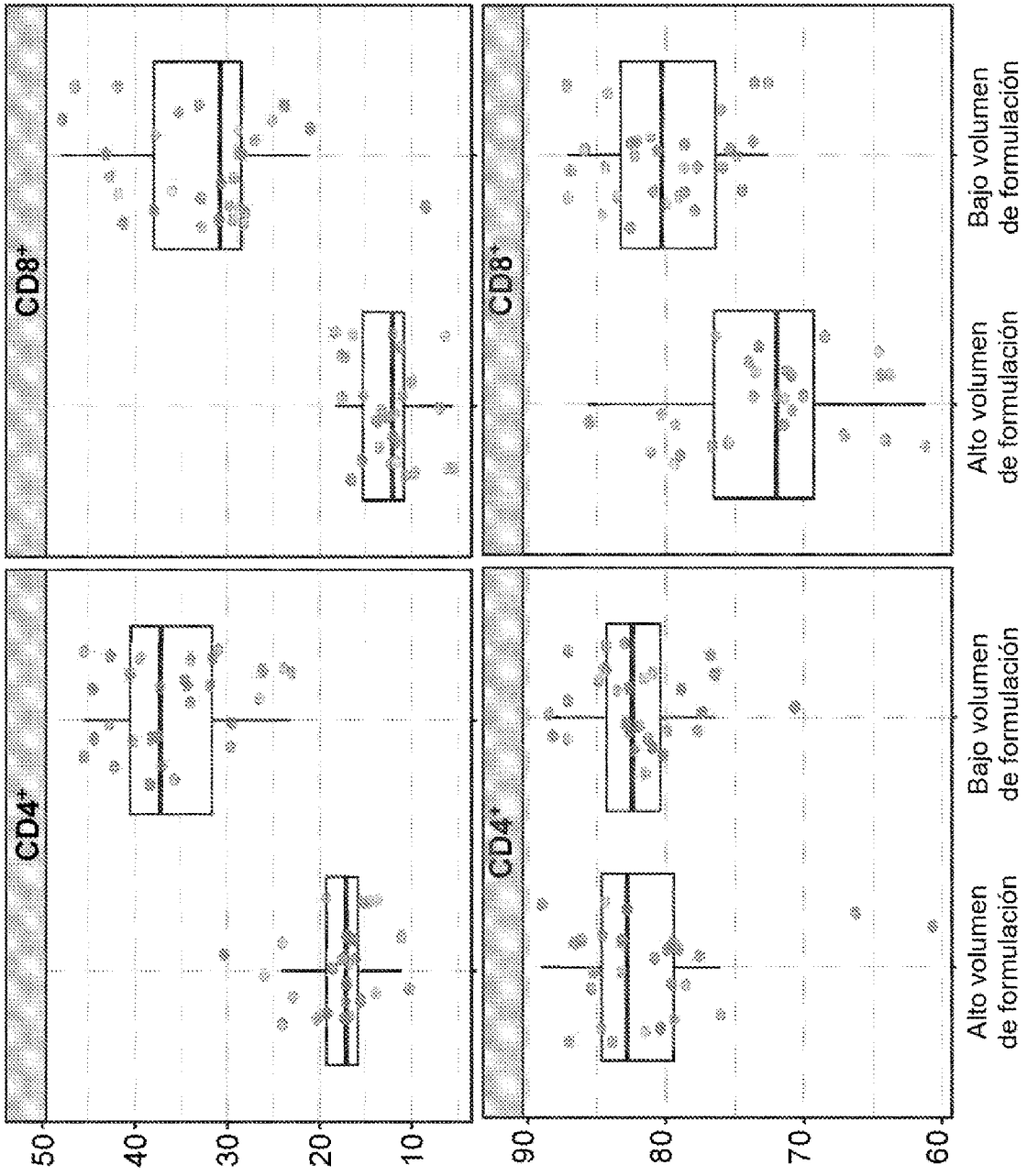


FIG. 27A

FIG. 27B

FIG. 27C

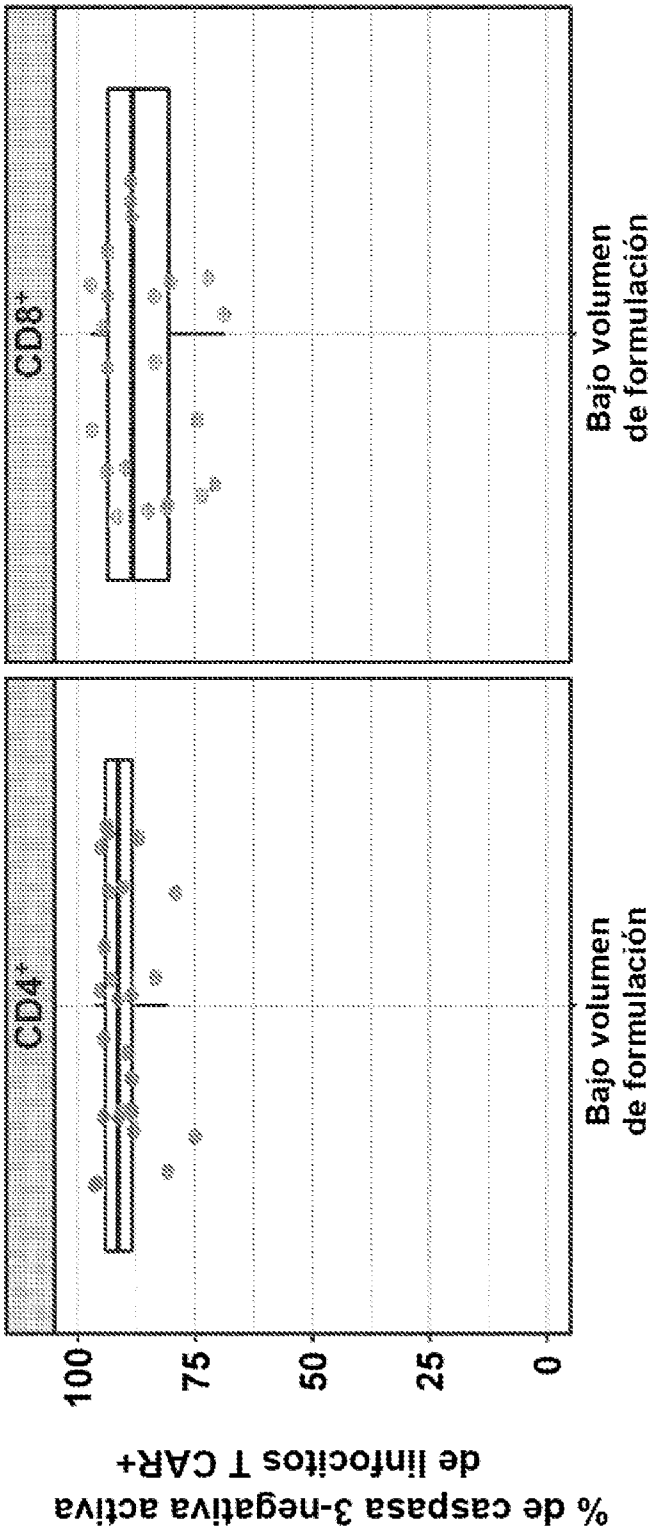

% de caspasa 3-negativa activa
de linfocitos T CAR+
100
75
50
25
0
CD4+
CD8+
Bajo volumen
de formulación
Bajo volumen
de formulación

FIG. 28A

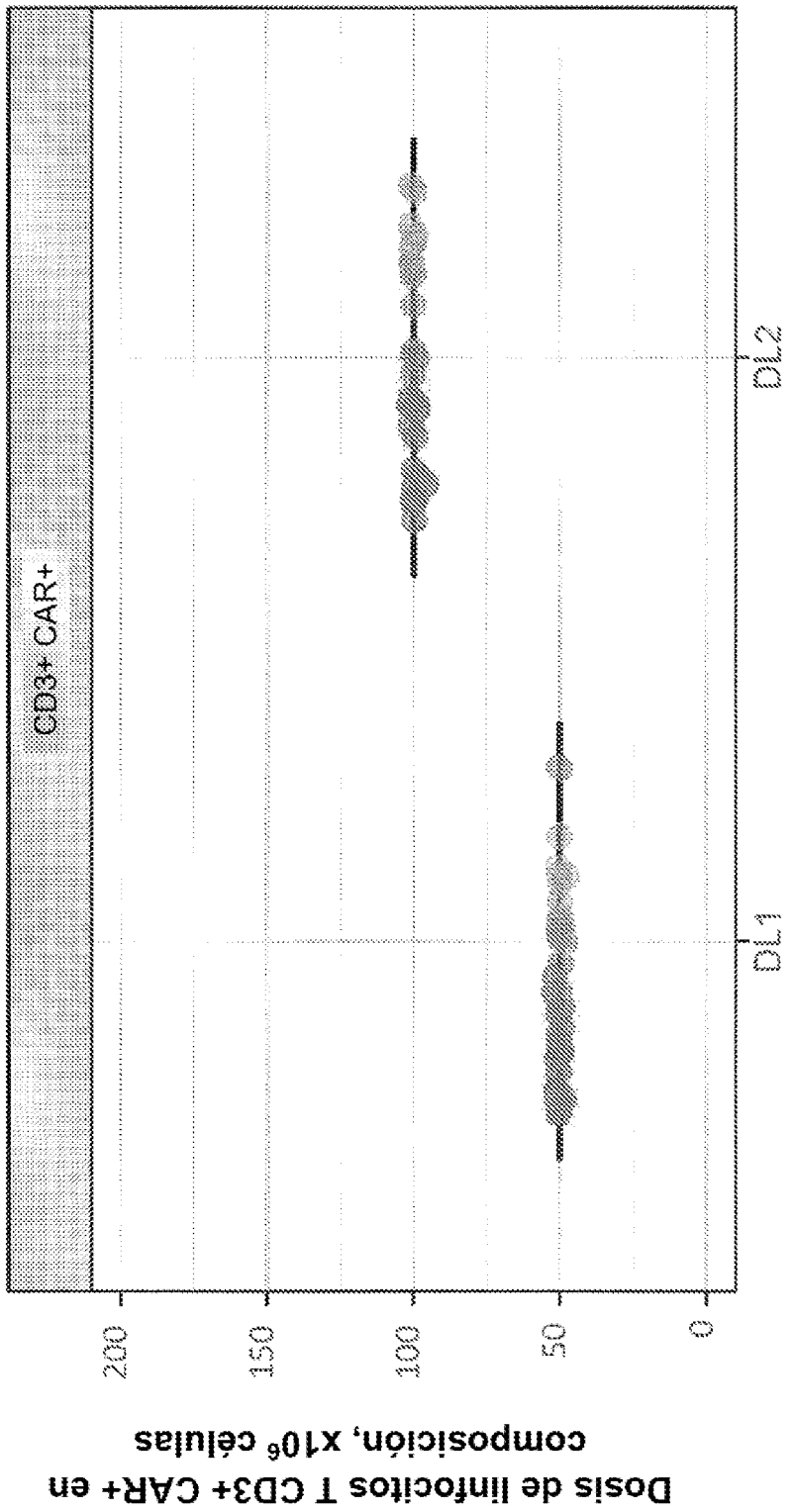

Dosis de linfocitos T CD3+ CAR+ en composición, x10⁶ células
200
150
100
50
0
CD3+ CAR+
DL1
DL2

FIG. 28B

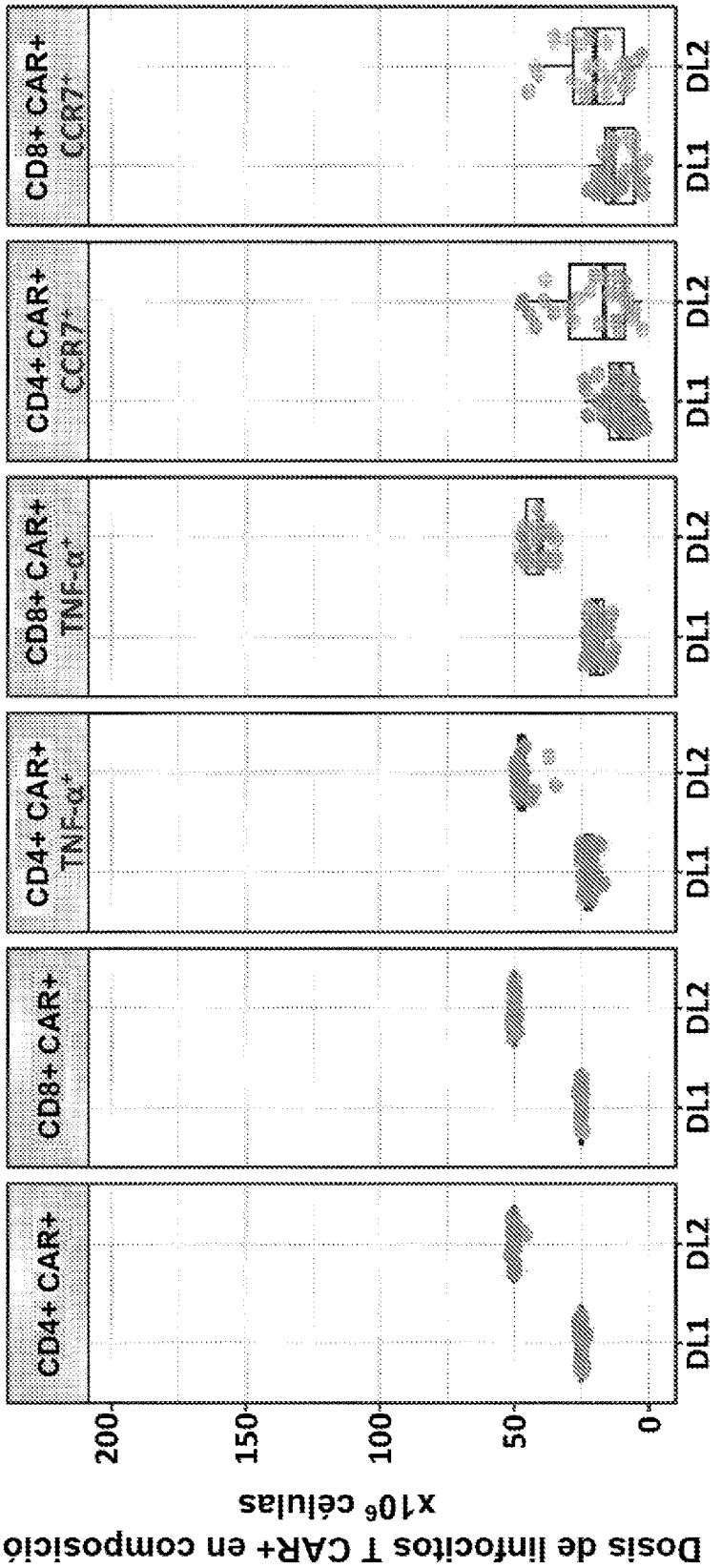

Dosis de linfocitos T CAR+ en composición, x10⁶ células
200
150
100
50
0
CD4+ CAR+
CD8+ CAR+
CD4+ CAR+ TNF-α+
CD8+ CAR+ TNF-α+
CD4+ CAR+ CCR7+
CD8+ CAR+ CCR7+
DL1
DL2

FIG. 29

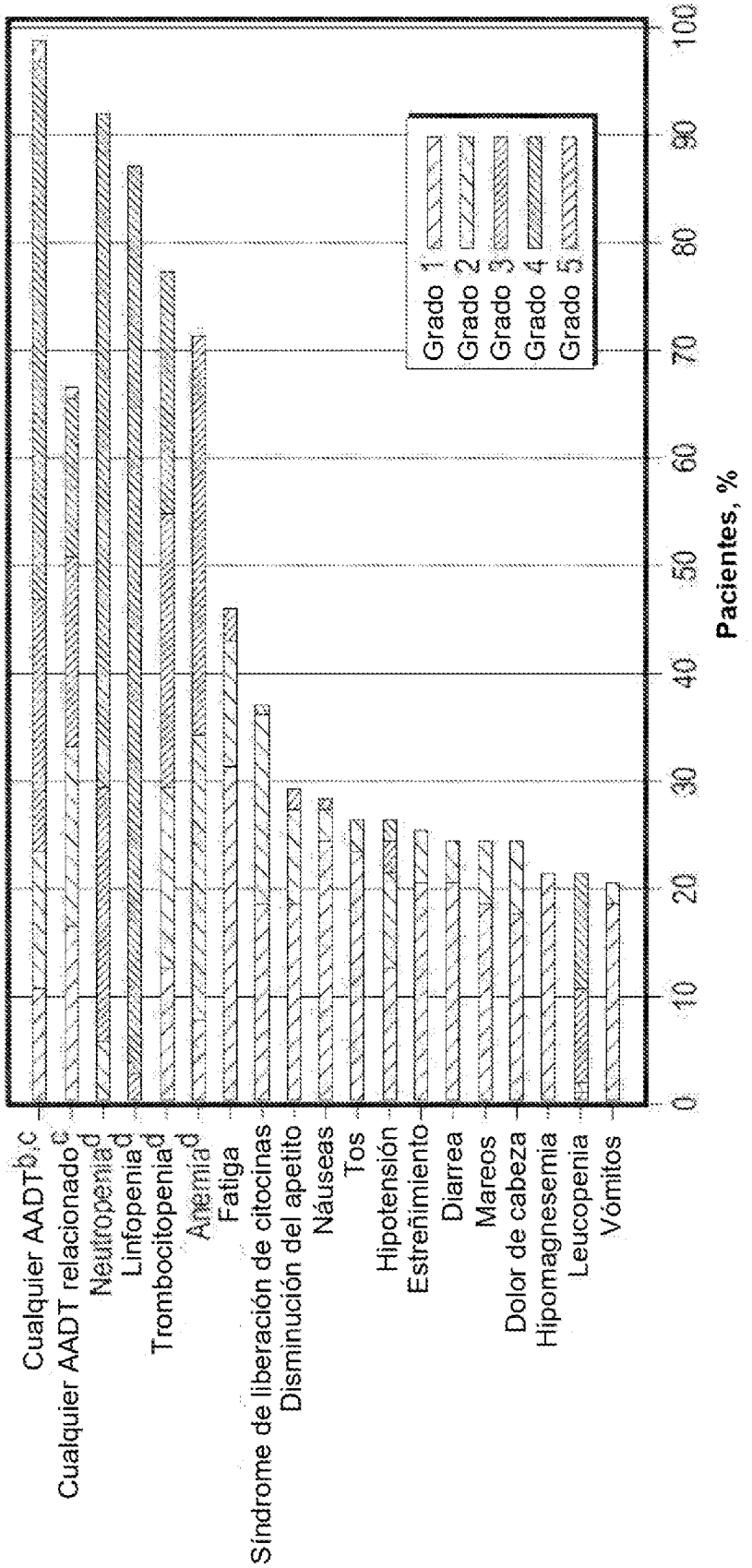

Cualquier AADT[b,c]
Cualquier AADT relacionado[c]
Neutropenia[d]
Linfopenia[d]
Trombocitopenia[d]
Anemia[d]
Fatiga
Síndrome de liberación de citocinas
Disminución del apetito
Náuseas
Tos
Hipotensión
Estreñimiento
Diarrea
Mareos
Dolor de cabeza
Hipomagnesemia
Leucopenia
Vómitos
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
Pacientes, %
Grado 1
Grado 2
Grado 3
Grado 4
Grado 5

FIG. 30

Población	TRO (IC del 95 %)	n
Población de pacientes CENTRAL	46,6 (34,8-58,6)	73
Doble/triple impacto	62,5 (35,4-84,8)	16
Doble expresor	44,4 (13,7-78,8)	9
Nunca en RC	47,2 (30,4-64,5)	36
Sensible a quimioterapia	50 (29,1-70,9)	24
Resistente a quimioterapia	44,9 (30,7-59,8)	49
Recaída < 12 meses del TCMA	53,3 (26,6-78,7)	15
CE/PE hasta la última quimioterapia	41,2 (24,6-59,3)	34
IPI 3-5	26,9 (11,6-47,8)	26
IPI 0-2	56,8 (41-71,7)	44

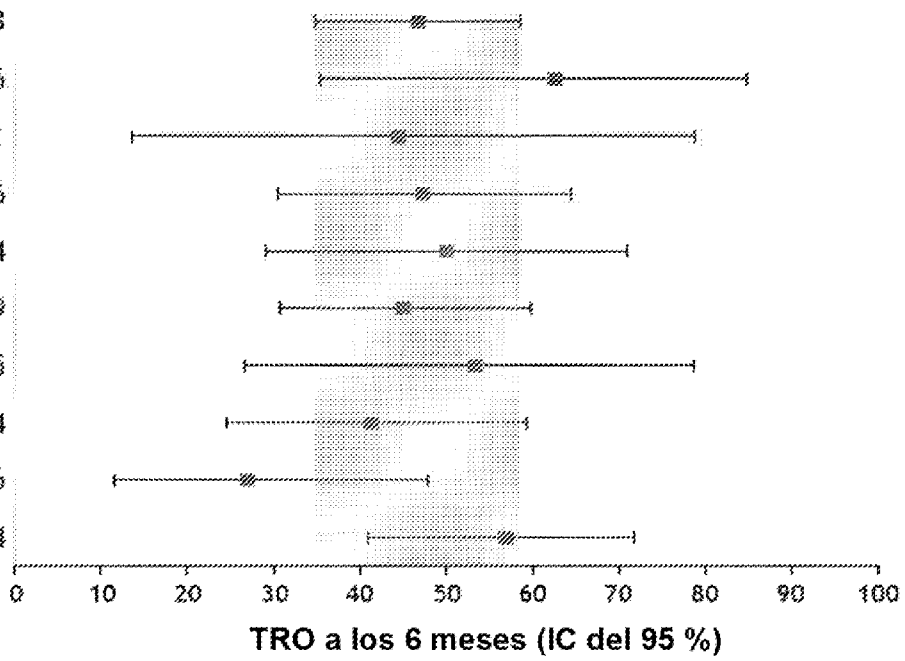


FIG. 31A

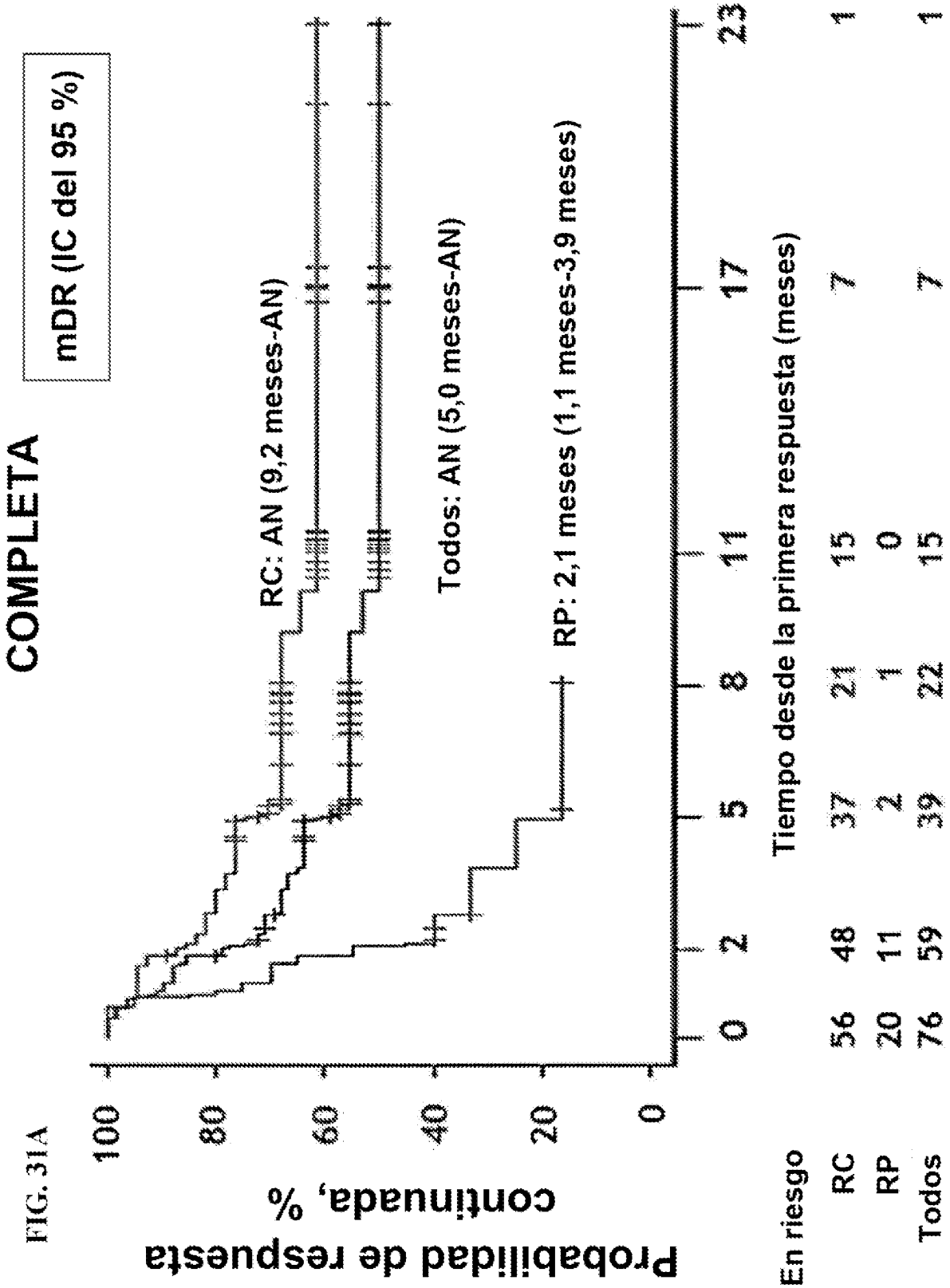

COMPLETA
mDR (IC del 95 %)
RC: AN (9,2 meses-AN)
Todos: AN (5,0 meses-AN)
RP: 2,1 meses (1,1 meses-3,9 meses)
Probabilidad de respuesta continuada, %
100
80
60
40
20
0
0
2
5
8
11
17
23
Tiempo desde la primera respuesta (meses)
En riesgo
RC 56 48 37 21 15 7 1
RP 20 11 2 1 0
Todos 76 59 39 22 15 7 1

FIG. 31B

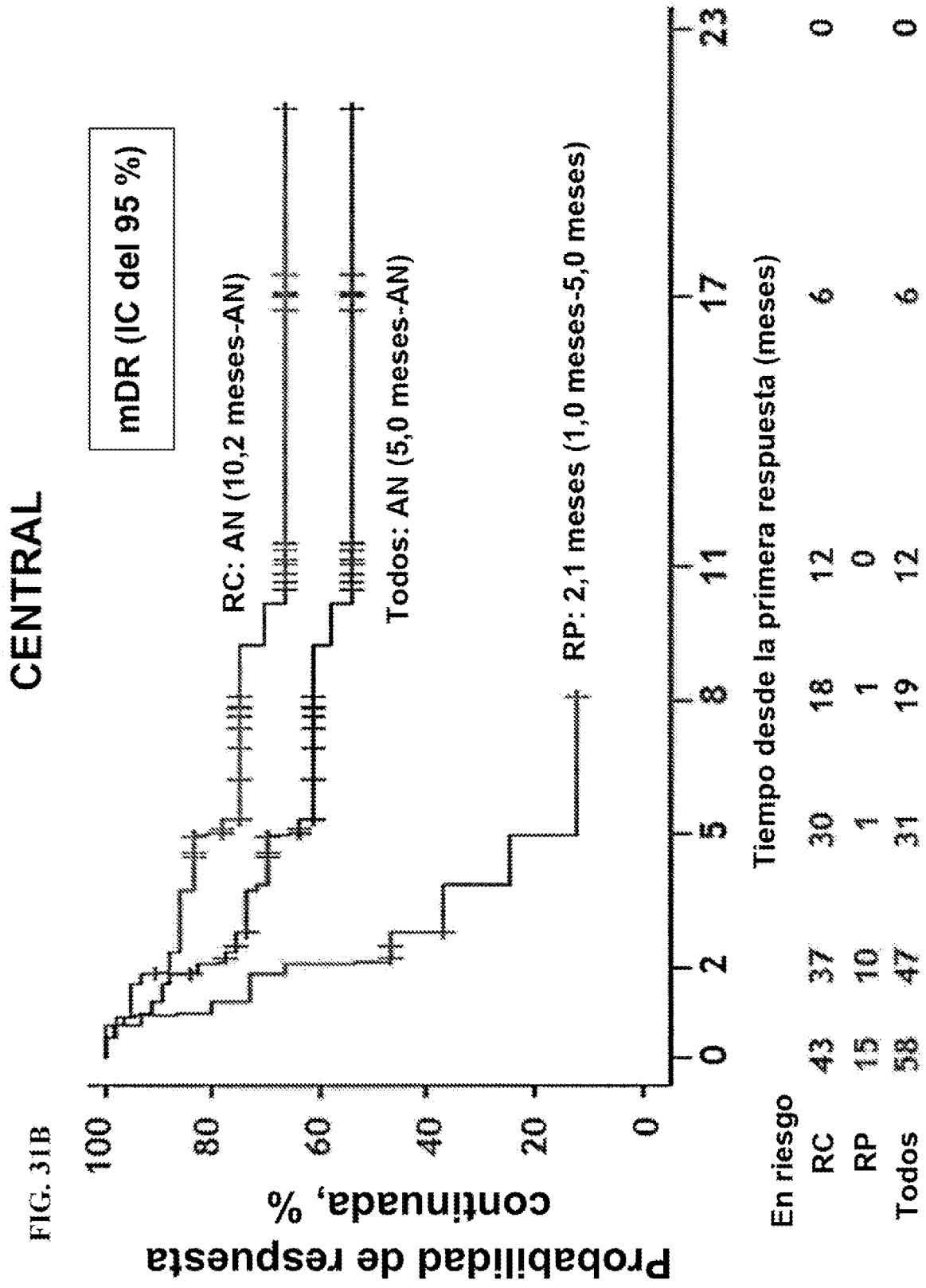

CENTRAL
mDR (IC del 95 %)
RC: AN (10,2 meses-AN)
Todos: AN (5,0 meses-AN)
RP: 2,1 meses (1,0 meses-5,0 meses)
Probabilidad de respuesta continuada, %
100
80
60
40
20
0
0
2
5
8
11
17
23
Tiempo desde la primera respuesta (meses)
En riesgo
RC 43 37 30 18 12 6 0
RP 15 10 1 1 0
Todos 58 47 31 19 12 6 0

FIG. 31C

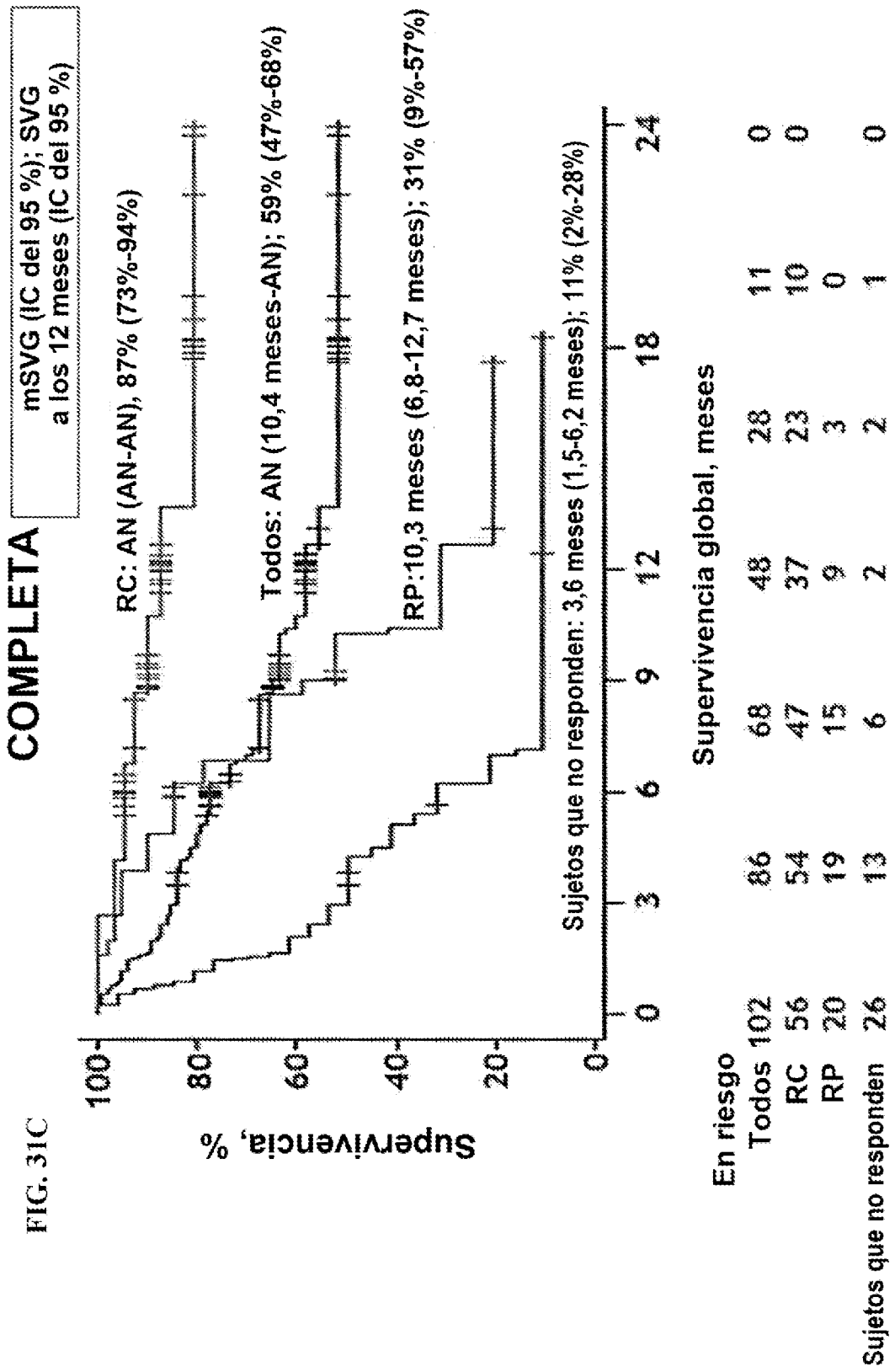

COMPLETA
mSVG (IC del 95 %); SVG a los 12 meses (IC del 95 %)
RC: AN (AN-AN), 87% (73%-94%)
Todos: AN (10,4 meses-AN); 59% (47%-68%)
RP:10,3 meses (6,8-12,7 meses); 31% (9%-57%)
Sujetos que no responden: 3,6 meses (1,5-6,2 meses); 11% (2%-28%)
Supervivencia, %
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
18
24
Supervivencia global, meses
En riesgo
Todos 102 86 68 48 28 11 0
RC 56 54 47 37 23 10 0
RP 20 19 15 9 3 0
Sujetos que no responden 26 13 6 2 2 1 0

FIG. 31D

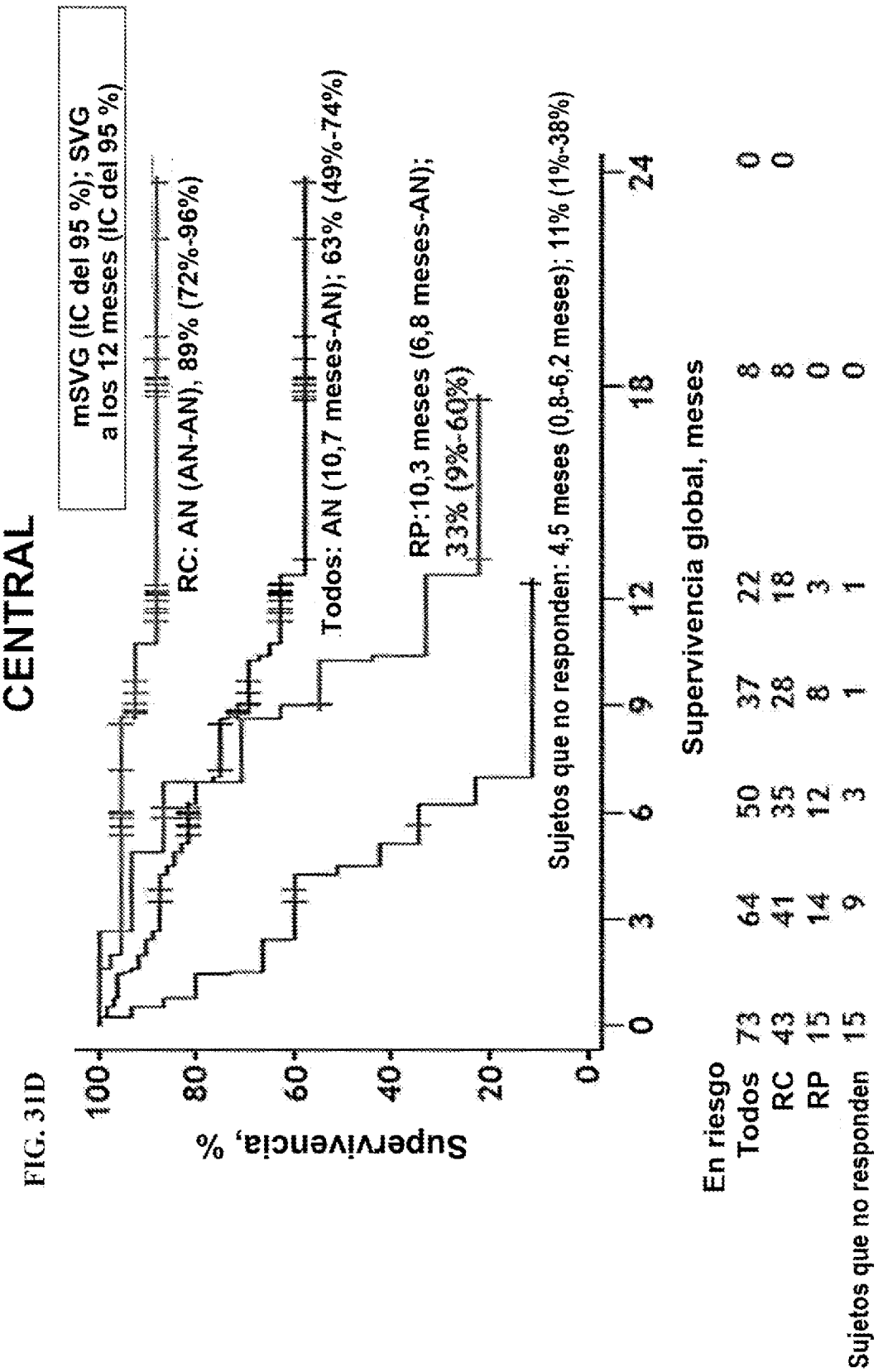

CENTRAL
mSVG (IC del 95 %); SVG a los 12 meses (IC del 95 %)
RC: AN (AN-AN), 89% (72%-96%)
Todos: AN (10,7 meses-AN); 63% (49%-74%)
RP:10,3 meses (6,8 meses-AN); 33% (9%-60%)
Sujetos que no responden: 4,5 meses (0,8-6,2 meses); 11% (1%-38%)
Supervivencia, %
100
80
60
40
20
0
0
3
6
9
12
18
24
Supervivencia global, meses
En riesgo
Todos 73 64 50 37 22 8 0
RC 43 41 35 28 18 8 0
RP 15 14 12 8 3 0
Sujetos que no responden 15 9 3 1 1 0

FIG. 32A

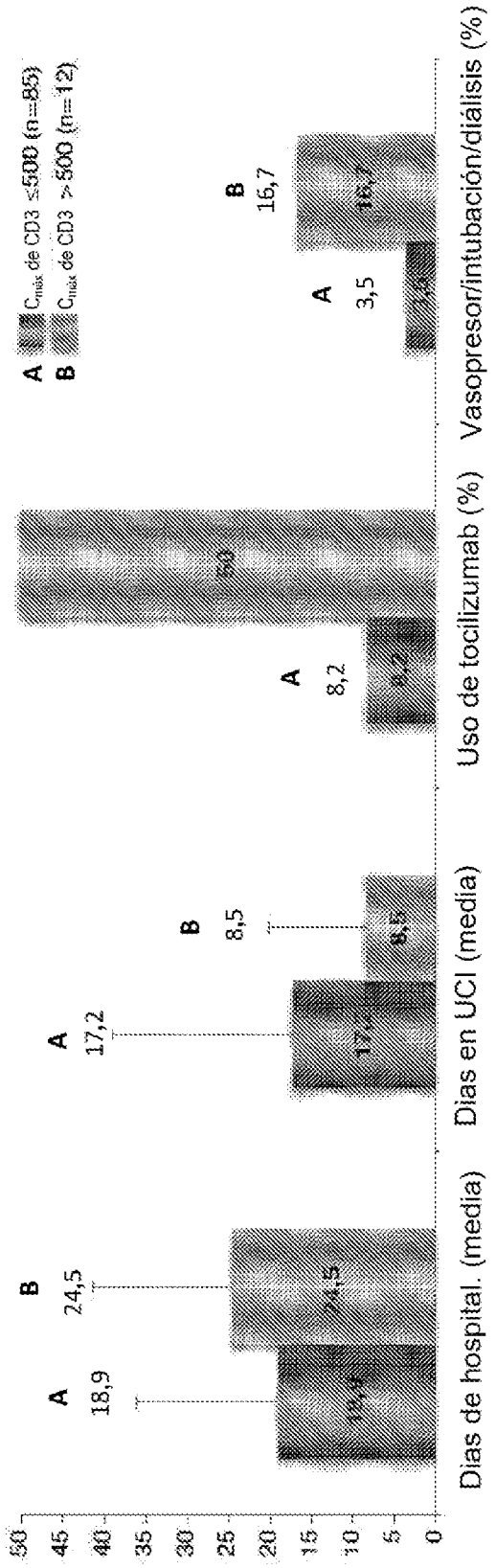


FIG. 32B

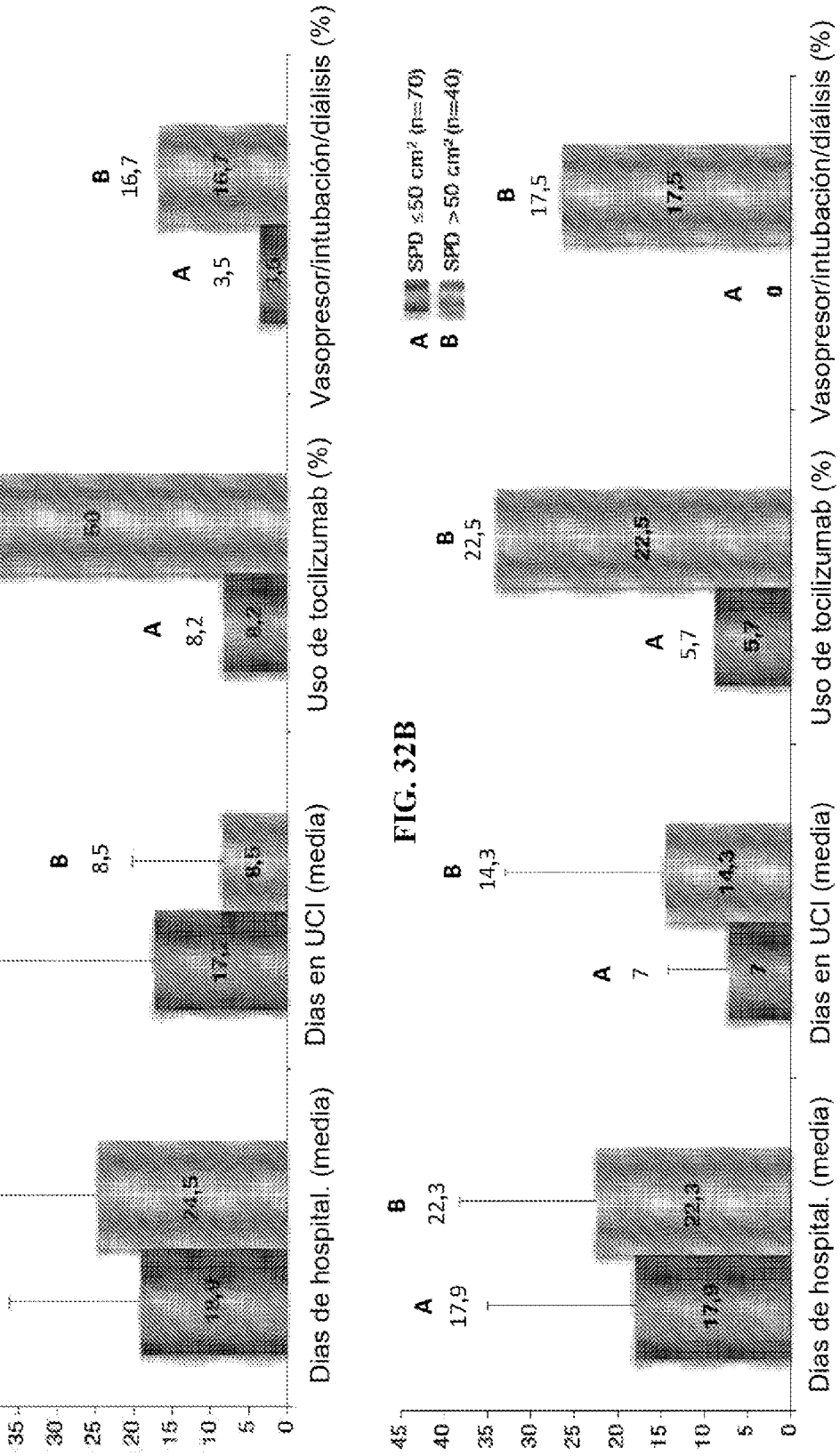


FIG. 32C

FIG. 32D

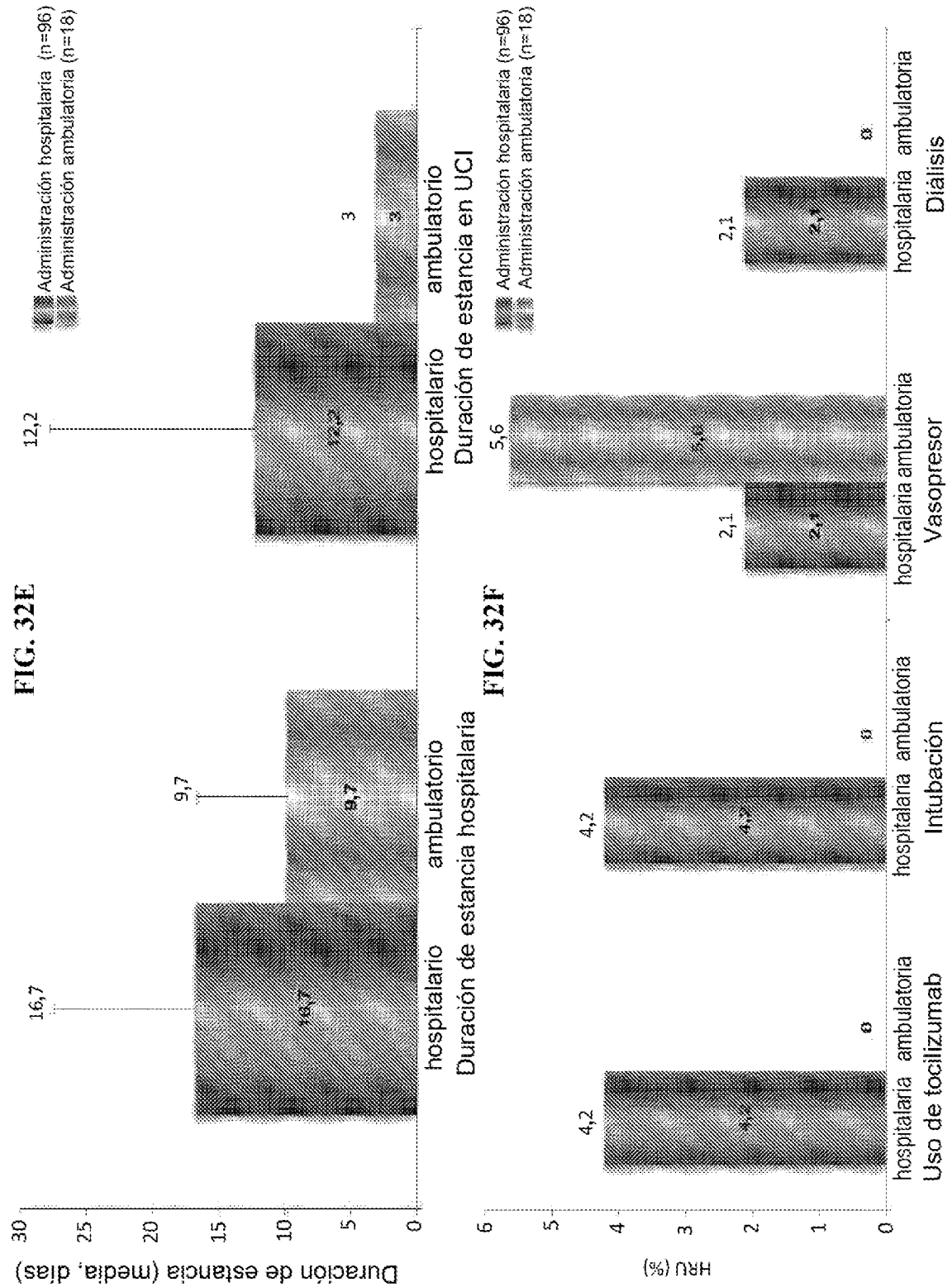


FIG. 32E

FIG. 32F

FIG. 33

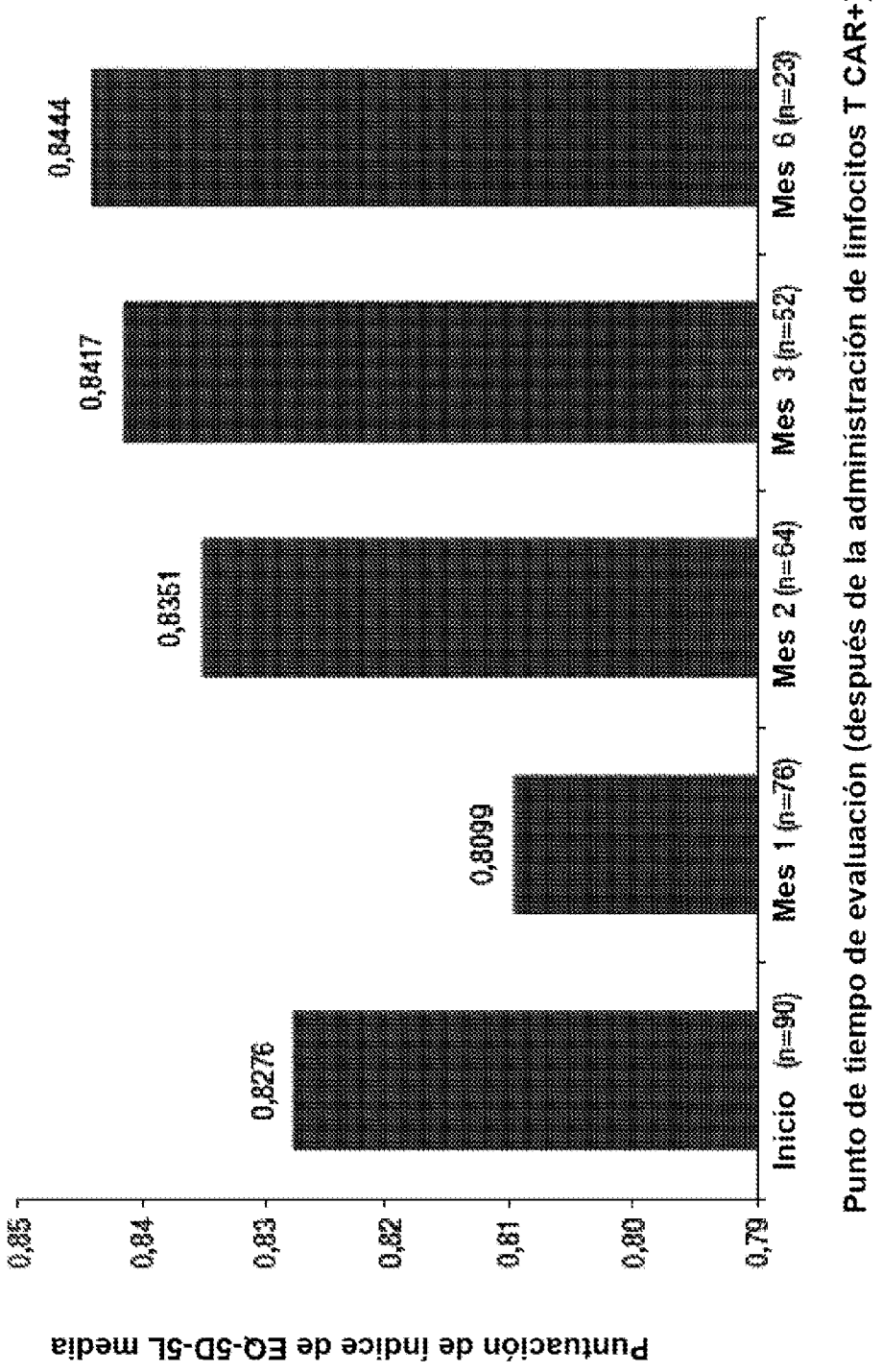

Puntuación de índice de EQ-5D-5L media
0,85
0,84
0,83
0,82
0,81
0,80
0,79
0,8276
0,8099
0,8351
0,8417
0,8444
Inicio (n=90)
Mes 1 (n=76)
Mes 2 (n=64)
Mes 3 (n=52)
Mes 6 (n=23)
Punto de tiempo de evaluación (después de la administración de linfocitos T CAR+)

FIG. 34

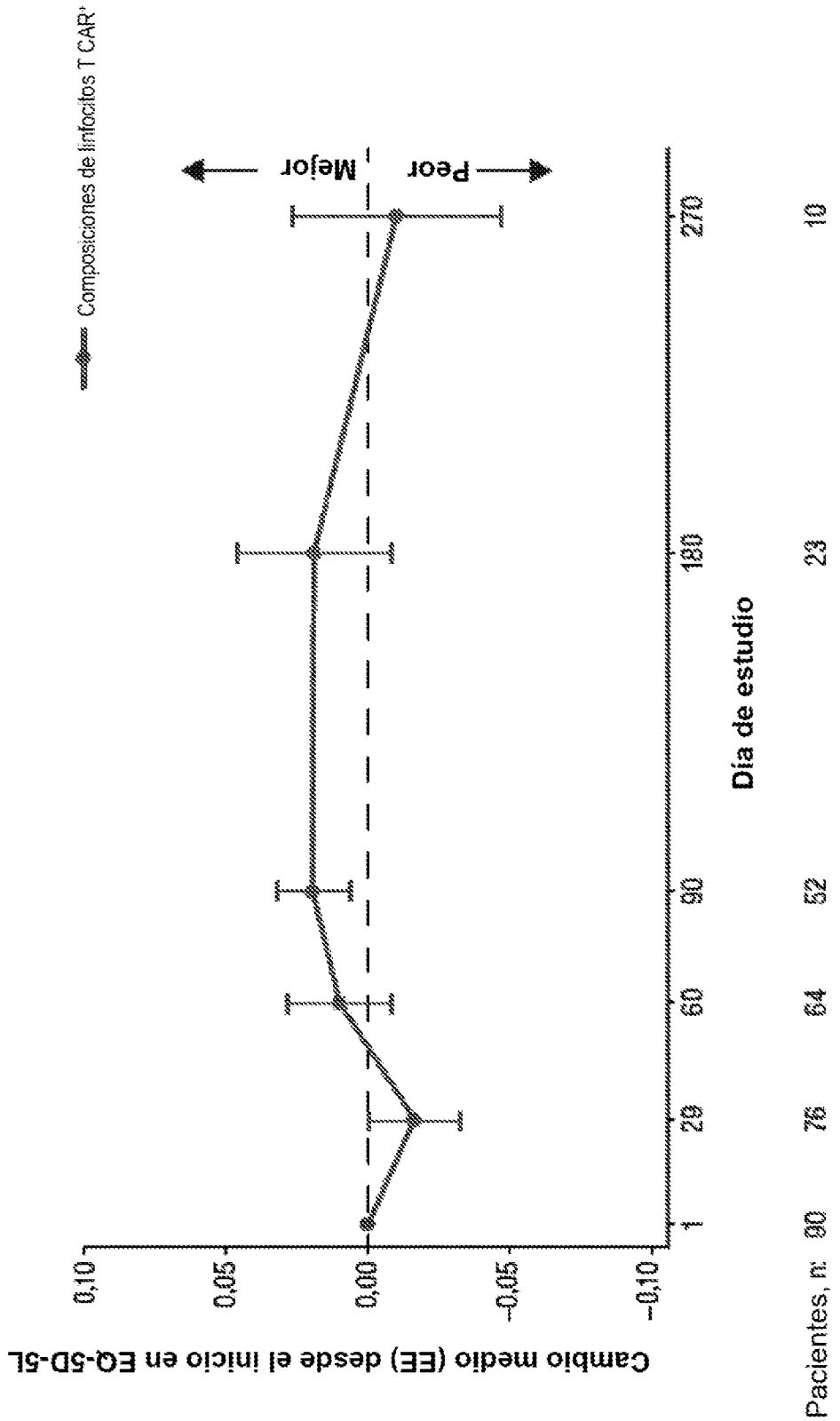

Composiciones de linfocitos T CAR+
Peor
Mejor
Cambio medio (EE) desde el inicio en EQ-5D-5L
0,10
0,05
0,00
-0,05
-0,10
1
29
60
90
180
270
Día de estudio
Pacientes, n:
90
76
64
52
23
10

FIG. 35

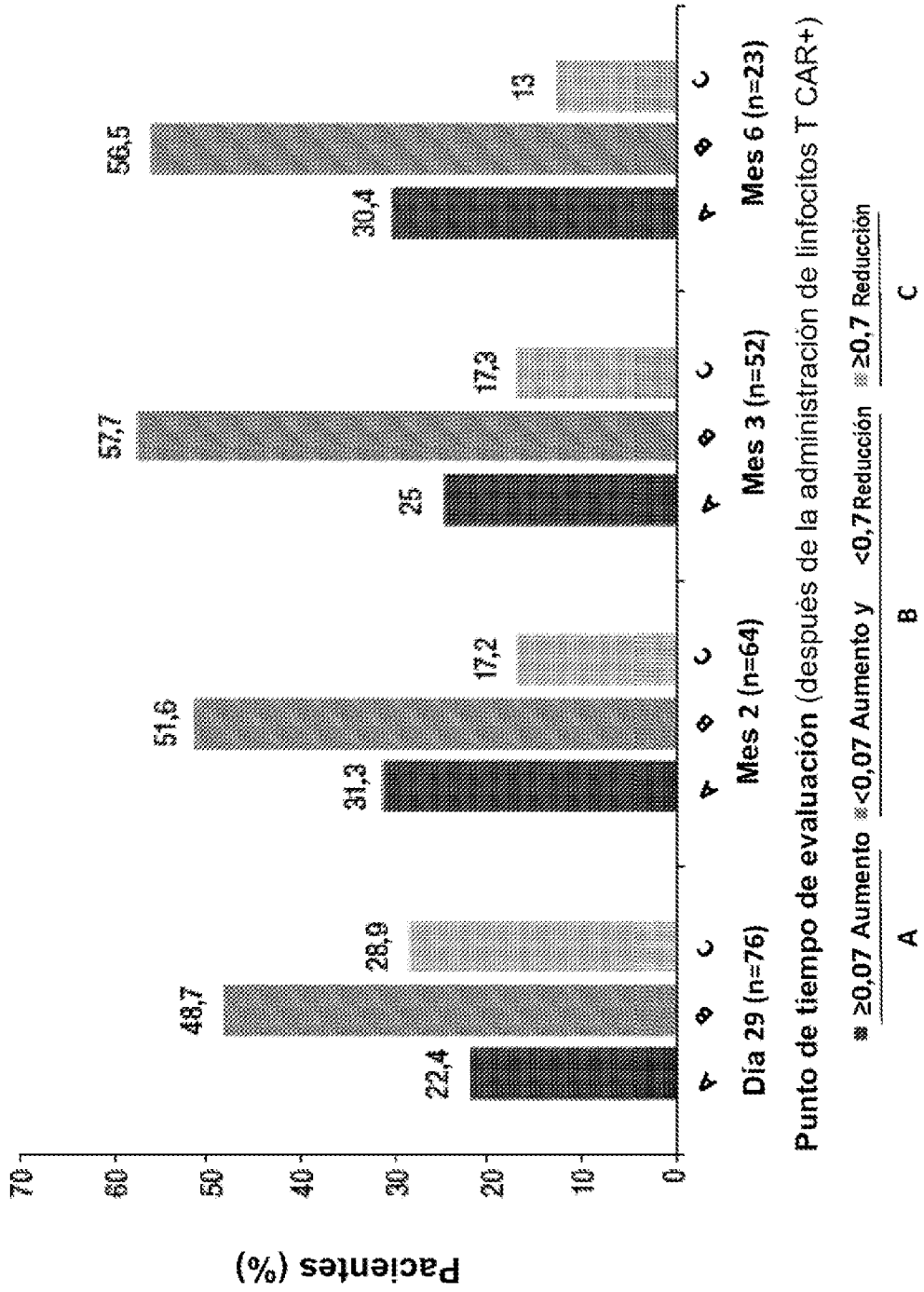

Análisis de estado de salud de sujetos que responden EQ-5D-5L
Pacientes (%)
70
60
50
40
30
20
10
0
22,4
48,7
28,9
31,3
51,6
17,2
25
57,7
17,3
30,4
56,5
13
Día 29 (n=76)
Mes 2 (n=64)
Mes 3 (n=52)
Mes 6 (n=23)
Punto de tiempo de evaluación (después de la administración de linfocitos T CAR+)
≥0,07 Aumento
<0,07 Aumento y <0,7 Reducción
≥0,7 Reducción
A
B
C

FIG. 36A

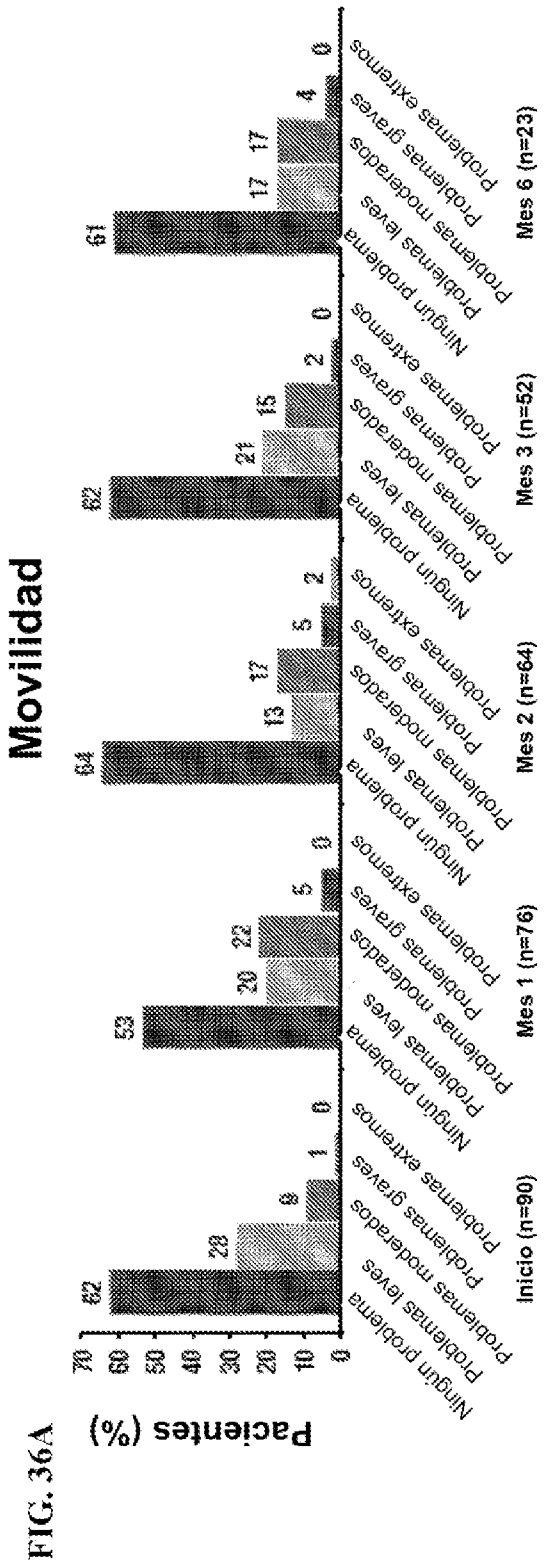


FIG. 36B

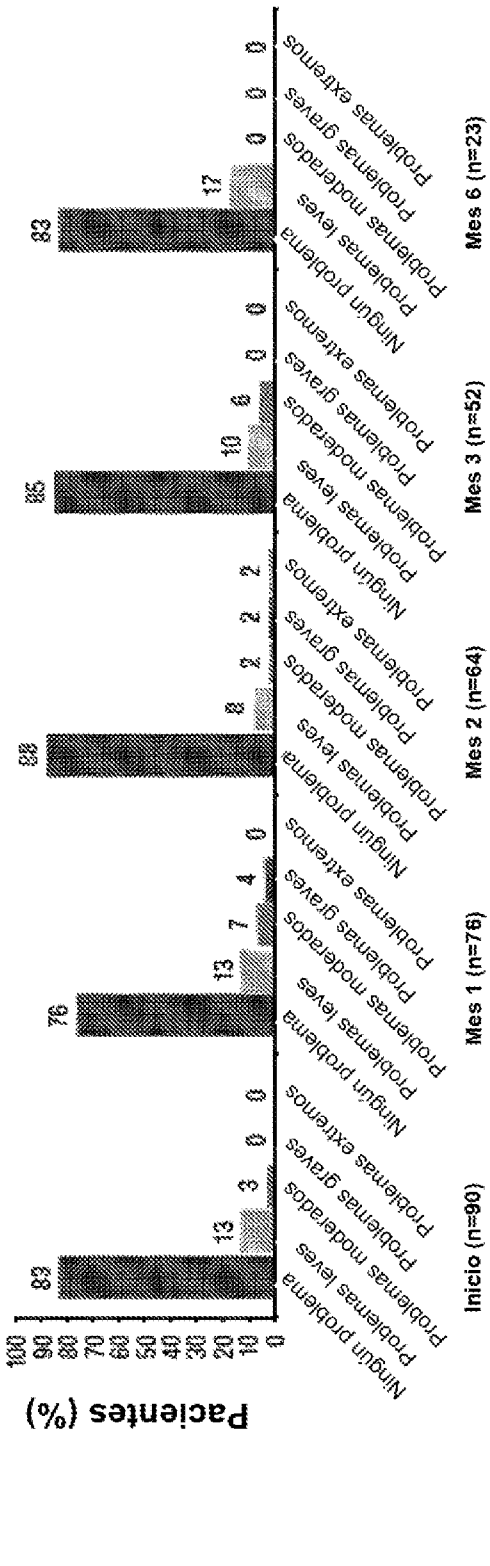


FIG. 36C

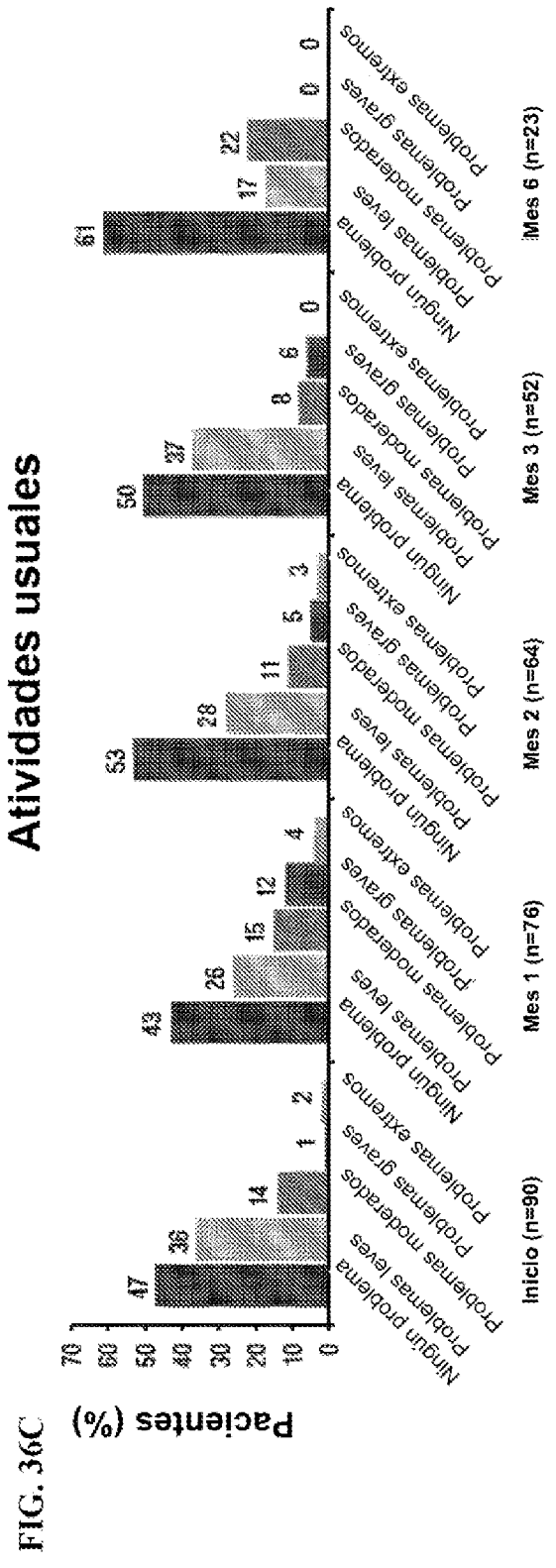


FIG. 36D

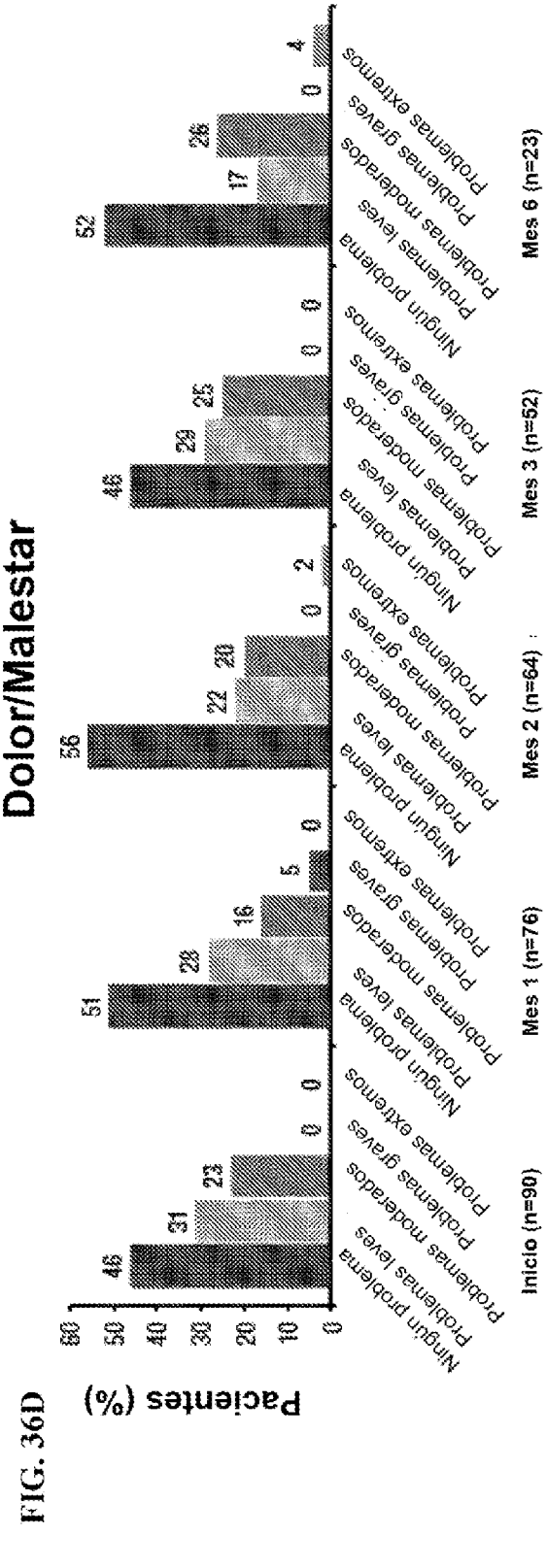


FIG. 36E

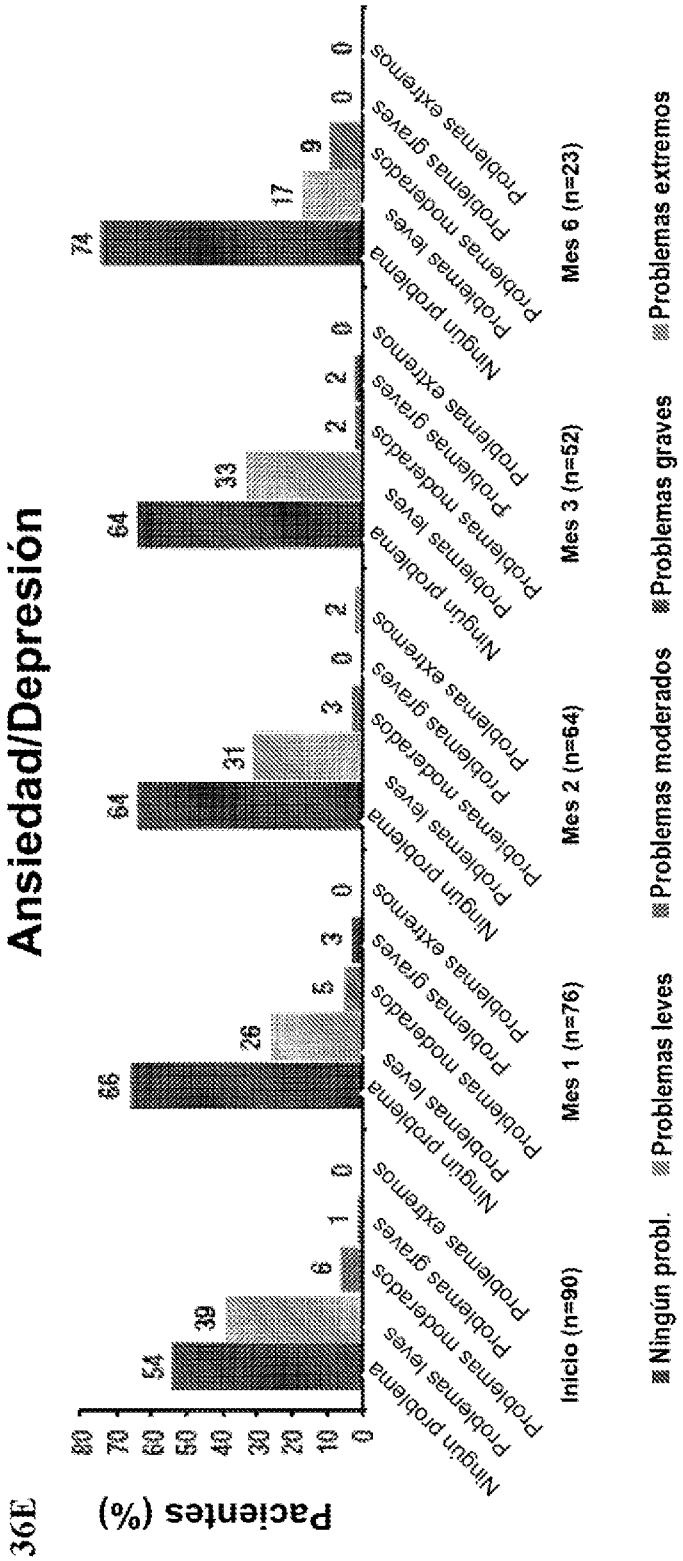

Ansiedad/Depresión
Pacientes (%)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
54
39
6
1
0
66
26
5
3
0
64
31
2
0
2
64
33
2
2
0
74
17
9
0
0
Ningún problema
Problemas leves
Problemas moderados
Problemas graves
Problemas extremos
Inicio (n=90)
Mes 1 (n=76)
Mes 2 (n=64)
Mes 3 (n=52)
Mes 6 (n=23)
Ningún probl.
Problemas leves
Problemas moderados
Problemas graves
Problemas extremos

FIG. 37

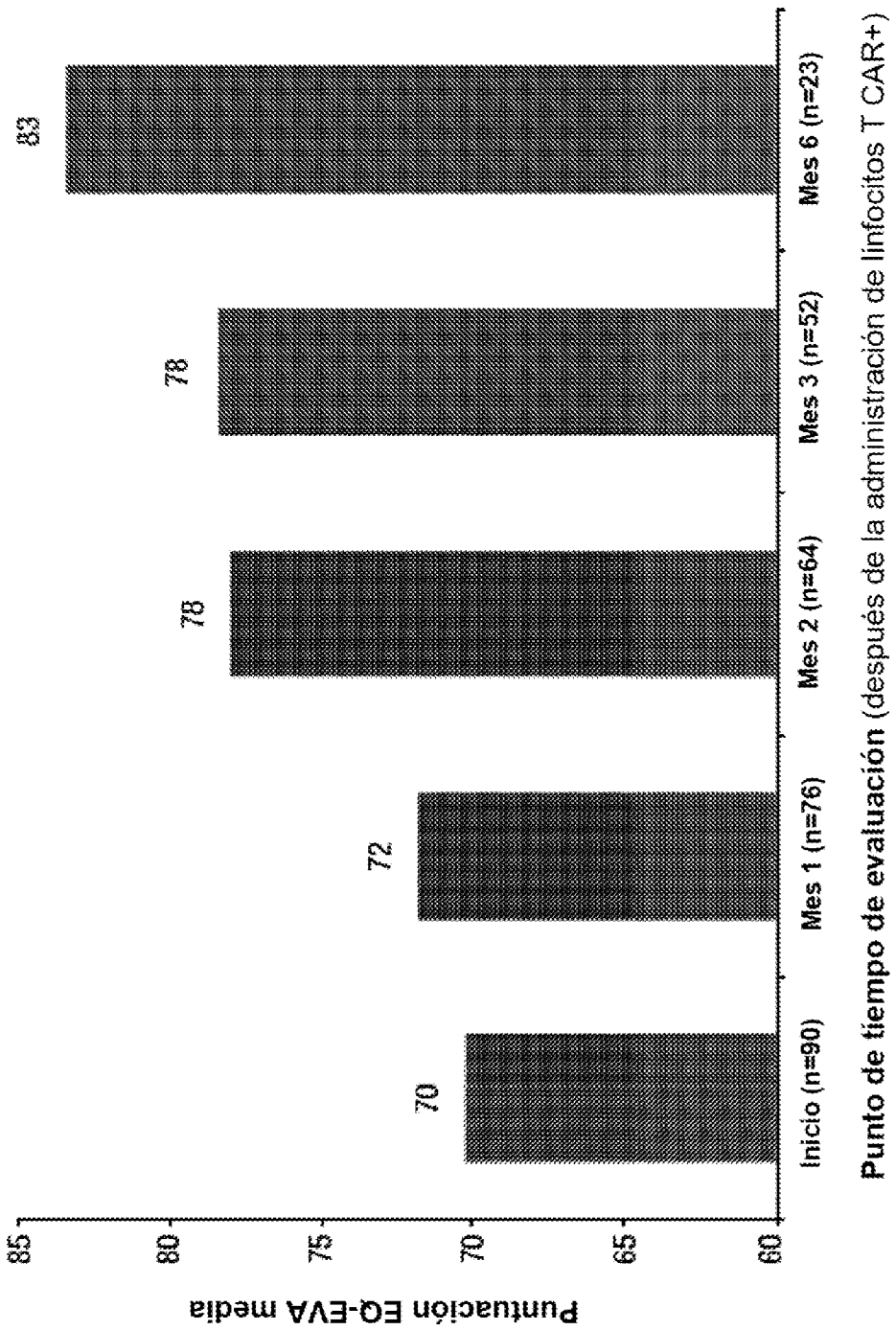

Puntuación EQ-EVA media
85
80
75
70
65
60
70
72
78
78
83
Inicio (n=90)
Mes 1 (n=76)
Mes 2 (n=64)
Mes 3 (n=52)
Mes 6 (n=23)
Punto de tiempo de evaluación (después de la administración de linfocitos T CAR+)

FIG. 38

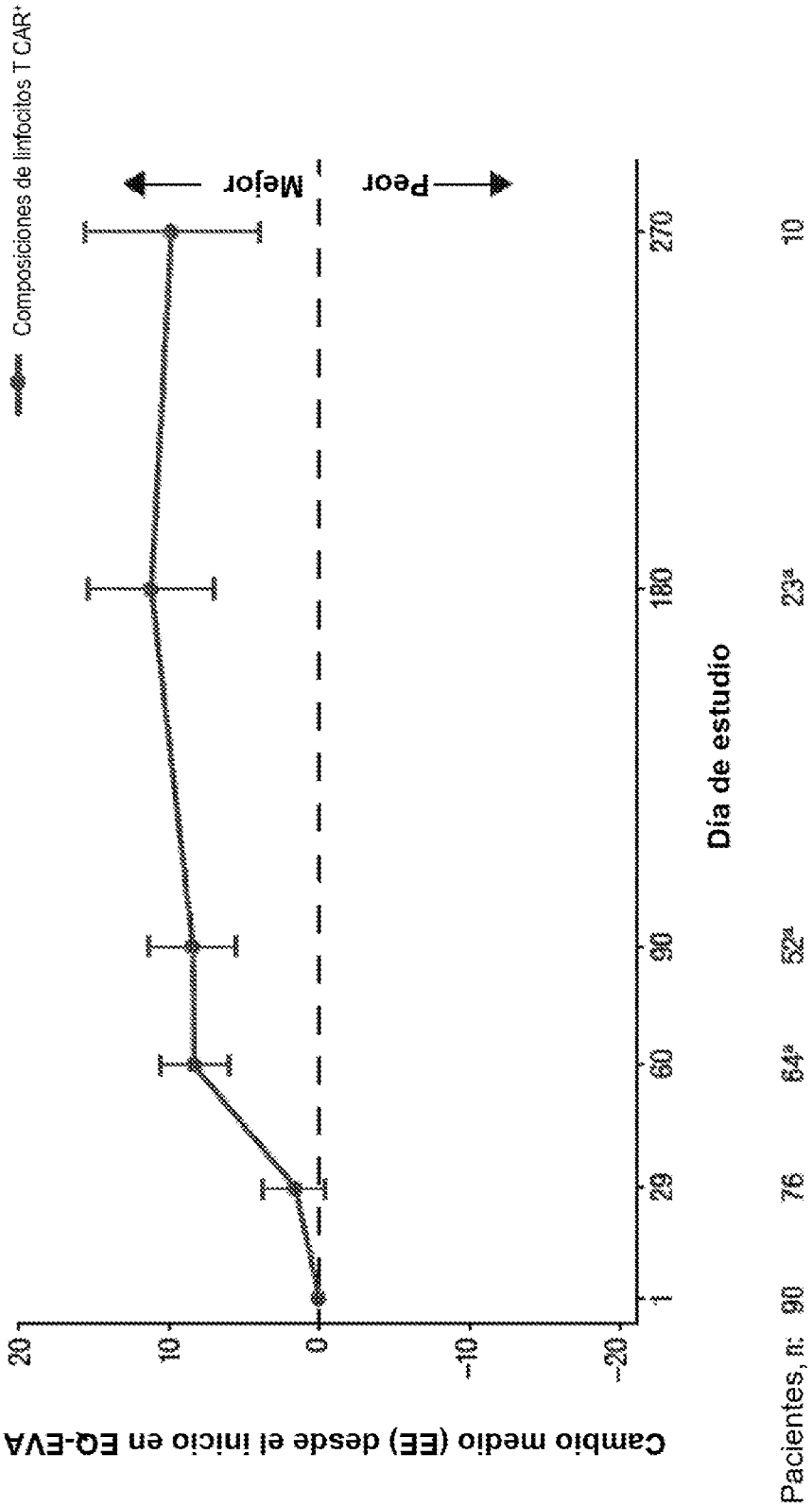

Composiciones de linfocitos T CAR+
Mejor
Peor
Cambio medio (EE) desde el inicio en EQ-EVA
20
10
0
-10
-20
Día de estudio
1
29
60
90
180
270
Pacientes, n: 90 76 64a 52a 23a 10

FIG. 39

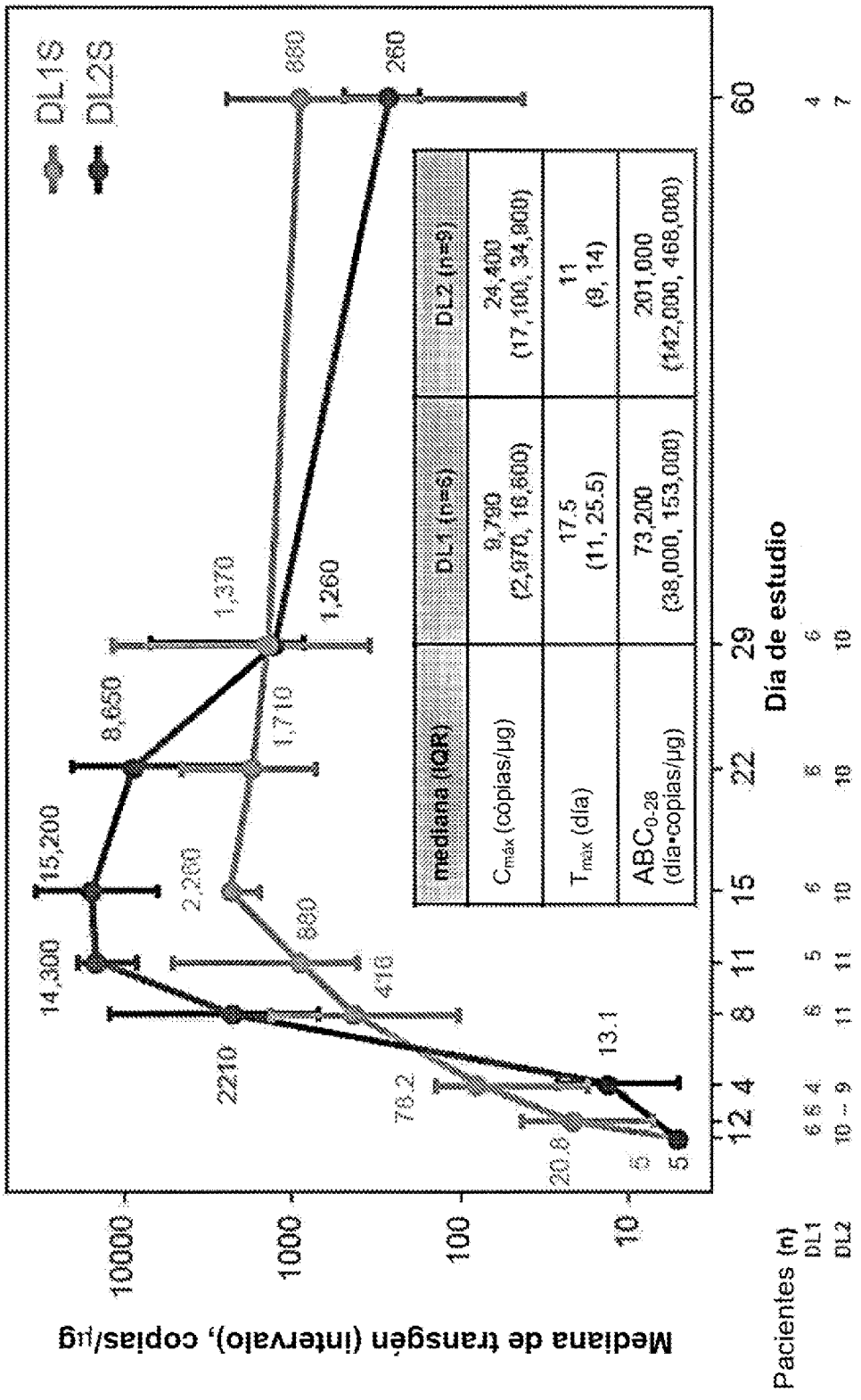

DL1S
DL2S
Mediana de transgén (intervalo), copias/µg
10000
1000
100
10
Día de estudio
1 2 4 8 11 15 22 29 60
14,300
15,200
8,650
1,378
2,280
1,710
1,260
880
416
78.2
20.6
13.1
5
2210
860
260
Pacientes (n)
DL1 6 6 4 6 5 6 6 6
DL2 10 – 9 11 11 10 10 10 7
mediana (IQR)
DL1 (n=5)
DL2 (n=5)
Cmáx (copias/µg)
8,730
(2,670, 16,600)
24,400
(17,100, 34,800)
Tmax (día)
17.5
(11, 25.5)
11
(8, 14)
ABC0-28 (día•copias/µg)
73,200
(38,000, 153,000)
201,000
(142,000, 468,000)

FIG. 40

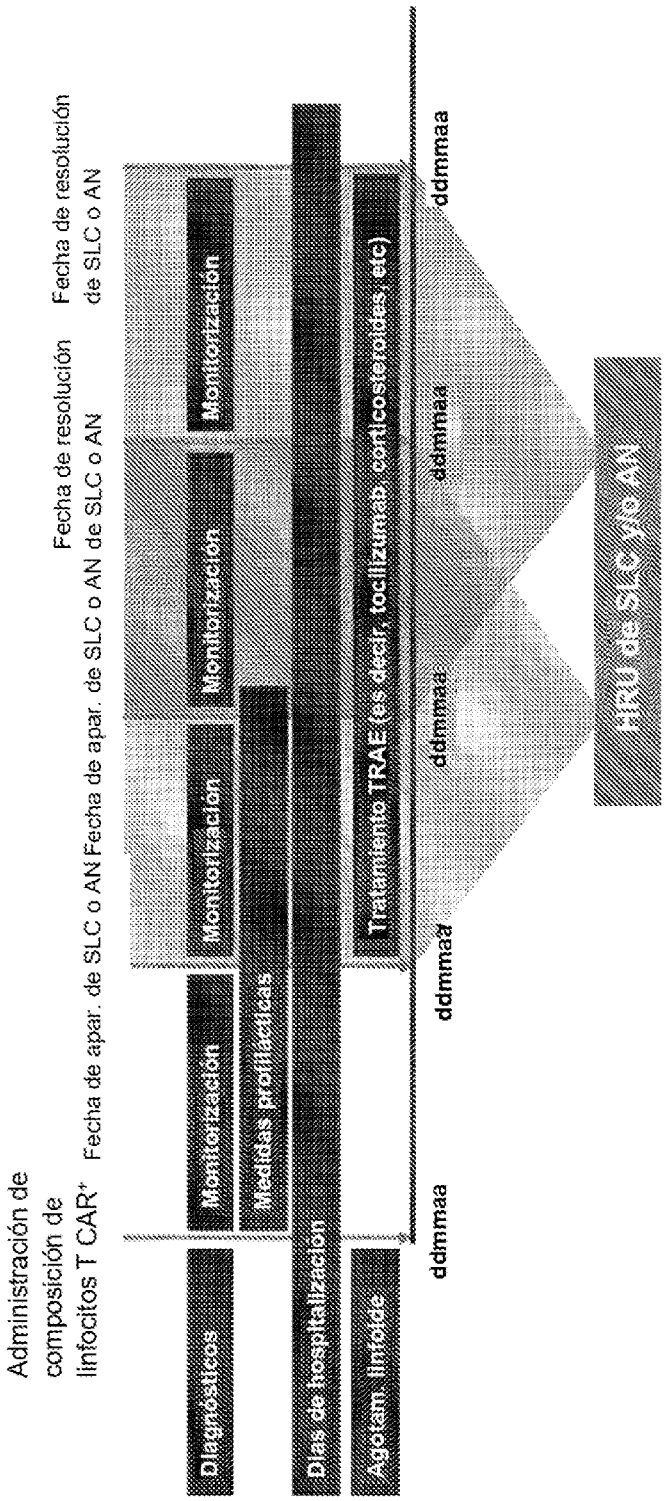

Administración de composición de linfocitos T CAR+
Fecha de apar. de SLC o AN
Fecha de apar. de SLC o AN
Fecha de resolución de SLC o AN
Fecha de resolución de SLC o AN
Diagnósticos
Monitorización
Monitorización
Monitorización
Medidas profilácticas
Días de hospitalización
Tratamiento TRAE (es decir, tocilizumab, corticosteroides, etc)
Agotam. linfoide
ddmmaa
ddmmaa
ddmmaa
ddmmaa
ddmmaa
Hitos de SLC y/o AN

FIG. 41

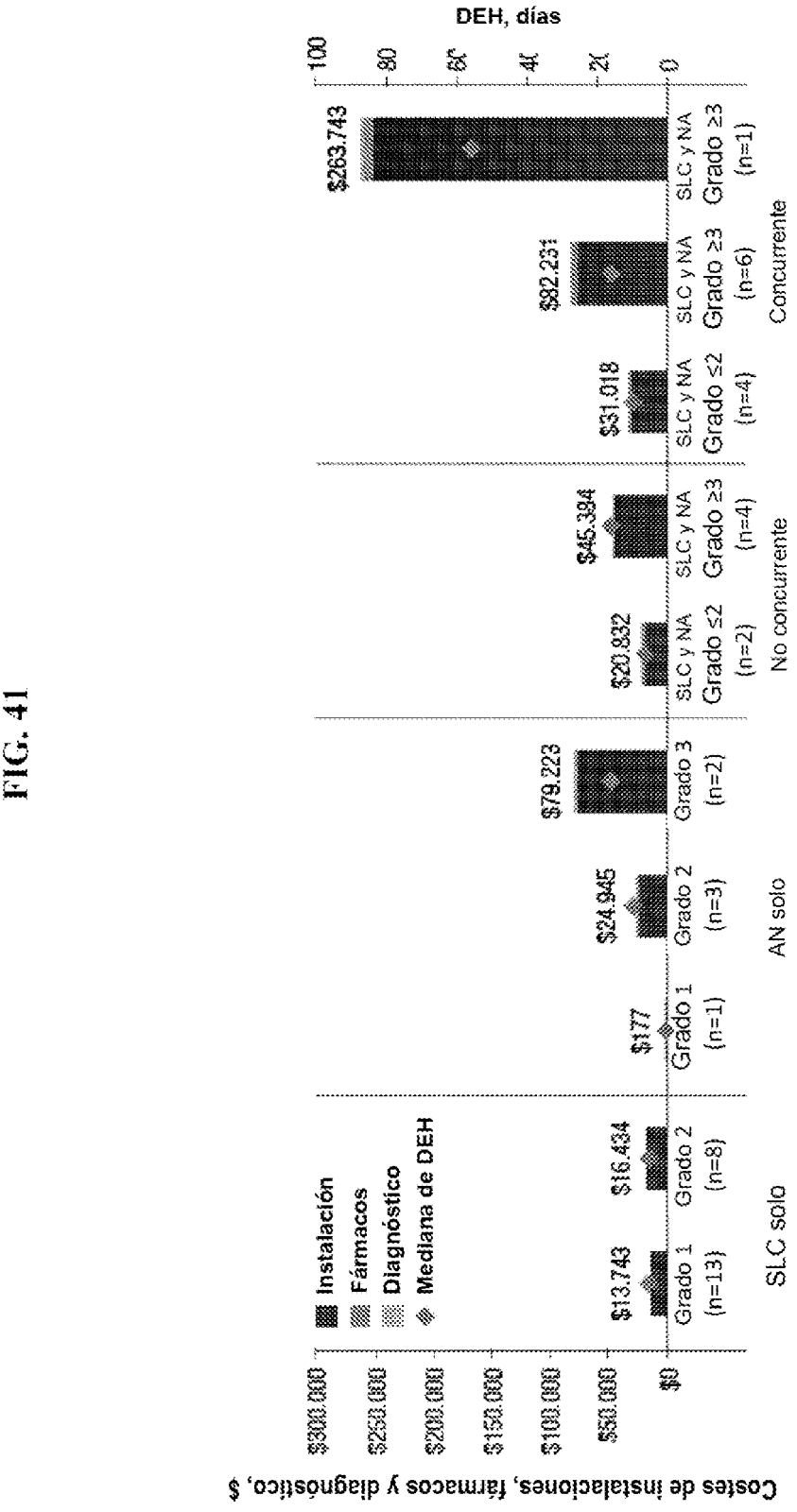
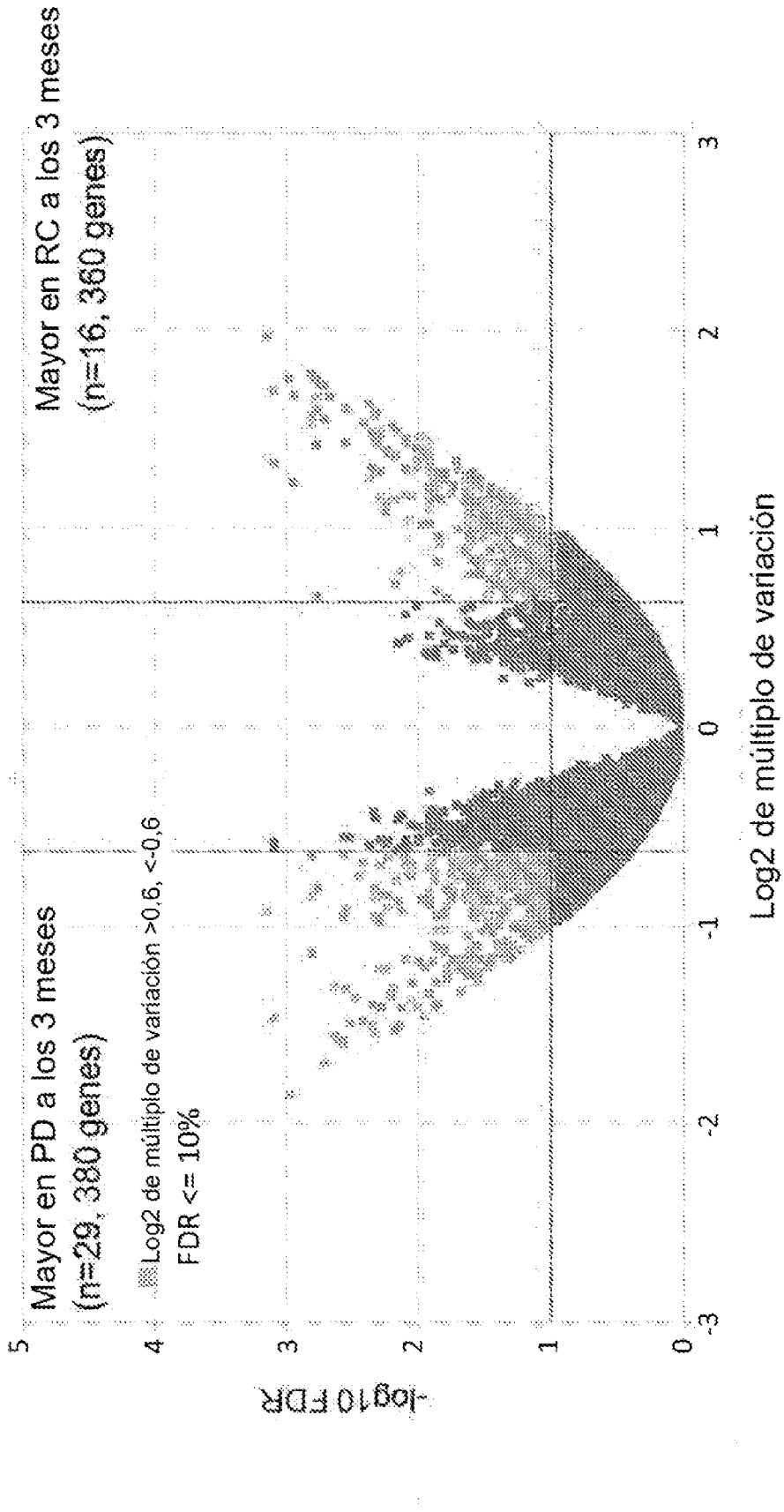

DEH, días
100
80
60
40
20
0
Costes de instalaciones, fármacos y diagnóstico, $
$300.000
$250.000
$200.000
$150.000
$100.000
$50.000
$0
Instalación
Fármacos
Diagnóstico
Mediana de DEH
$13.743
$16.434
$177
$24.945
$79.223
$20.932
$45.394
$31.018
$82.251
$263.743
Grado 1 (n=13)
Grado 2 (n=8)
Grado 1 (n=1)
Grado 2 (n=3)
Grado 3 (n=2)
SLC y NA Grado ≤2 (n=2)
SLC y NA Grado ≥3 (n=4)
SLC y NA Grado ≤2 (n=4)
SLC y NA Grado ≥3 (n=6)
SLC y NA Grado ≥3 (n=1)
SLC solo
AN solo
No concurrente
Concurrente

FIG. 42


Mayor en PD a los 3 meses
(n=29, 380 genes)
Mayor en RC a los 3 meses
(n=16, 360 genes)
Log2 de múltiplo de variación >0,6, <-0,6
FDR <= 10%
-log10 FDR
Log2 de múltiplo de variación
5
4
3
2
1
0
-3
-2
-1
0
1
2
3

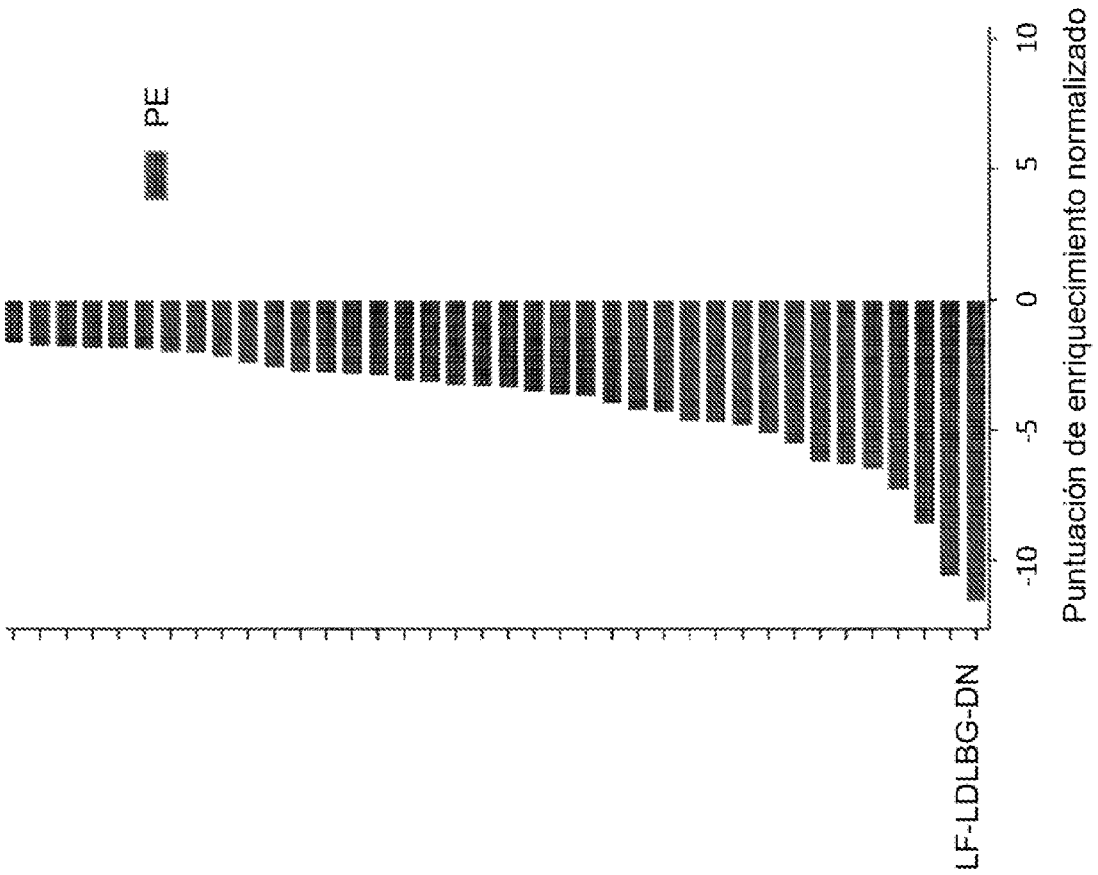

PE
LF-LDLBG-DN
-10
-5
0
5
10
Puntuación de enriquecimiento normalizado

FIG. 43

FIG. 44

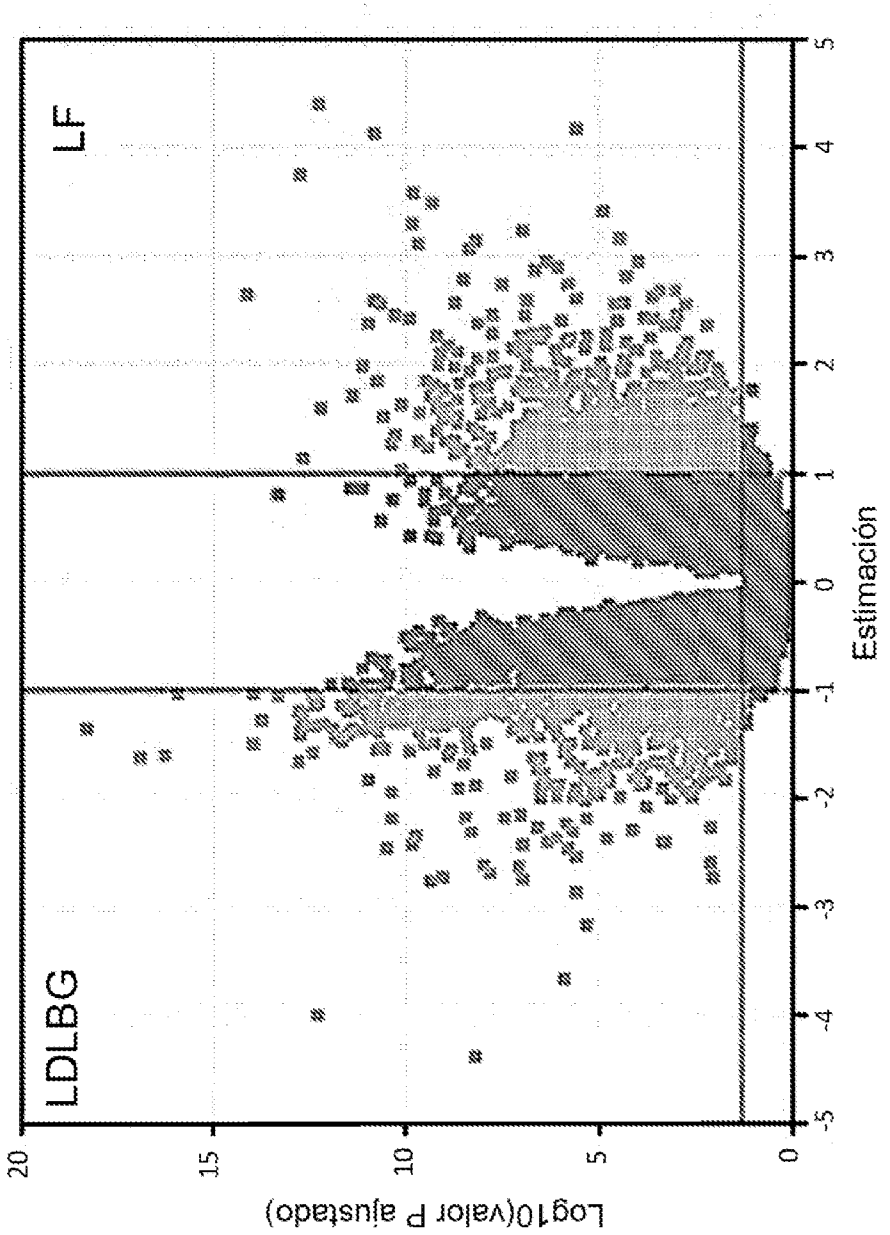

LDLBG
LF
Log10(valor P ajustado)
Estimación
20
15
10
5
0
5
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5

FIG. 45A

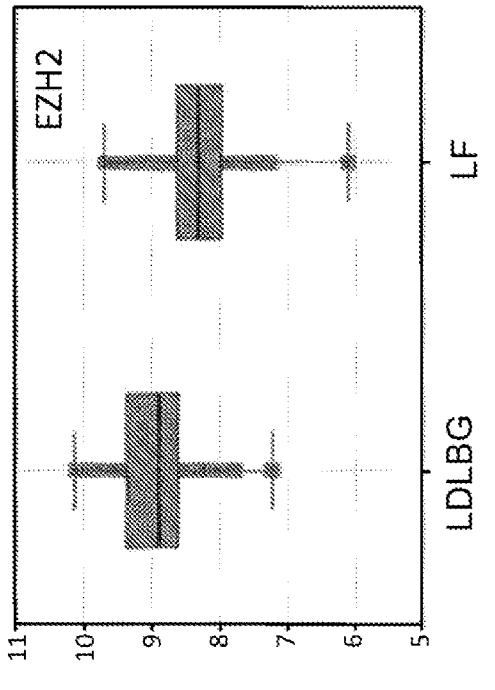


FIG. 45B

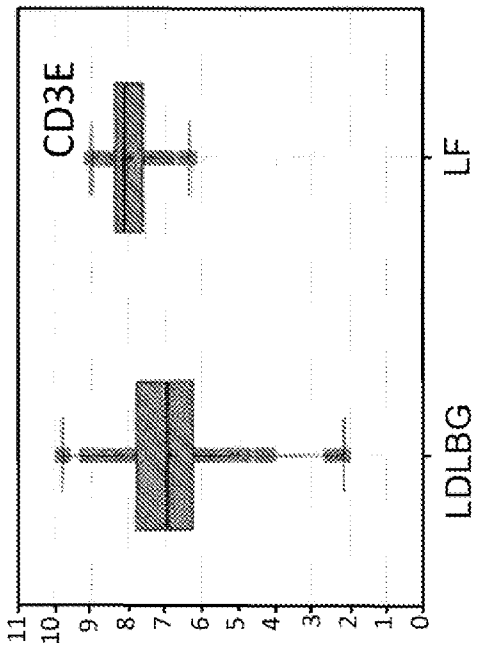


FIG. 46A

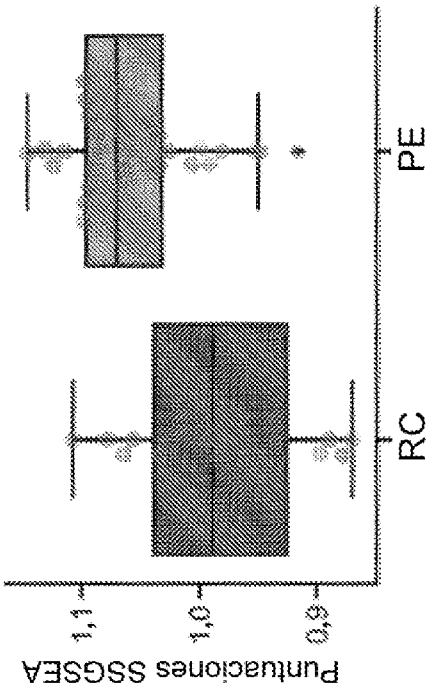


FIG. 46B

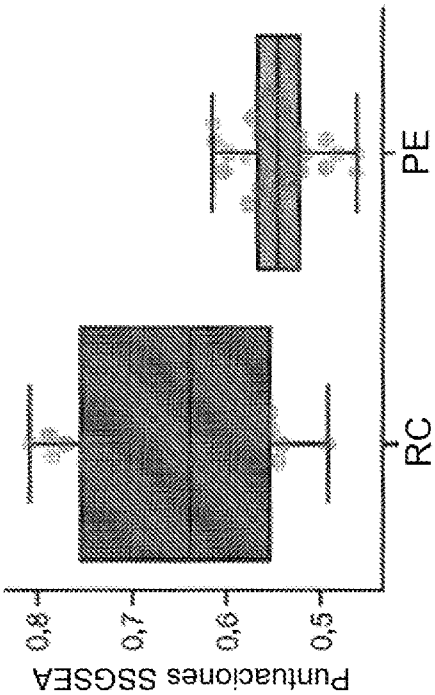
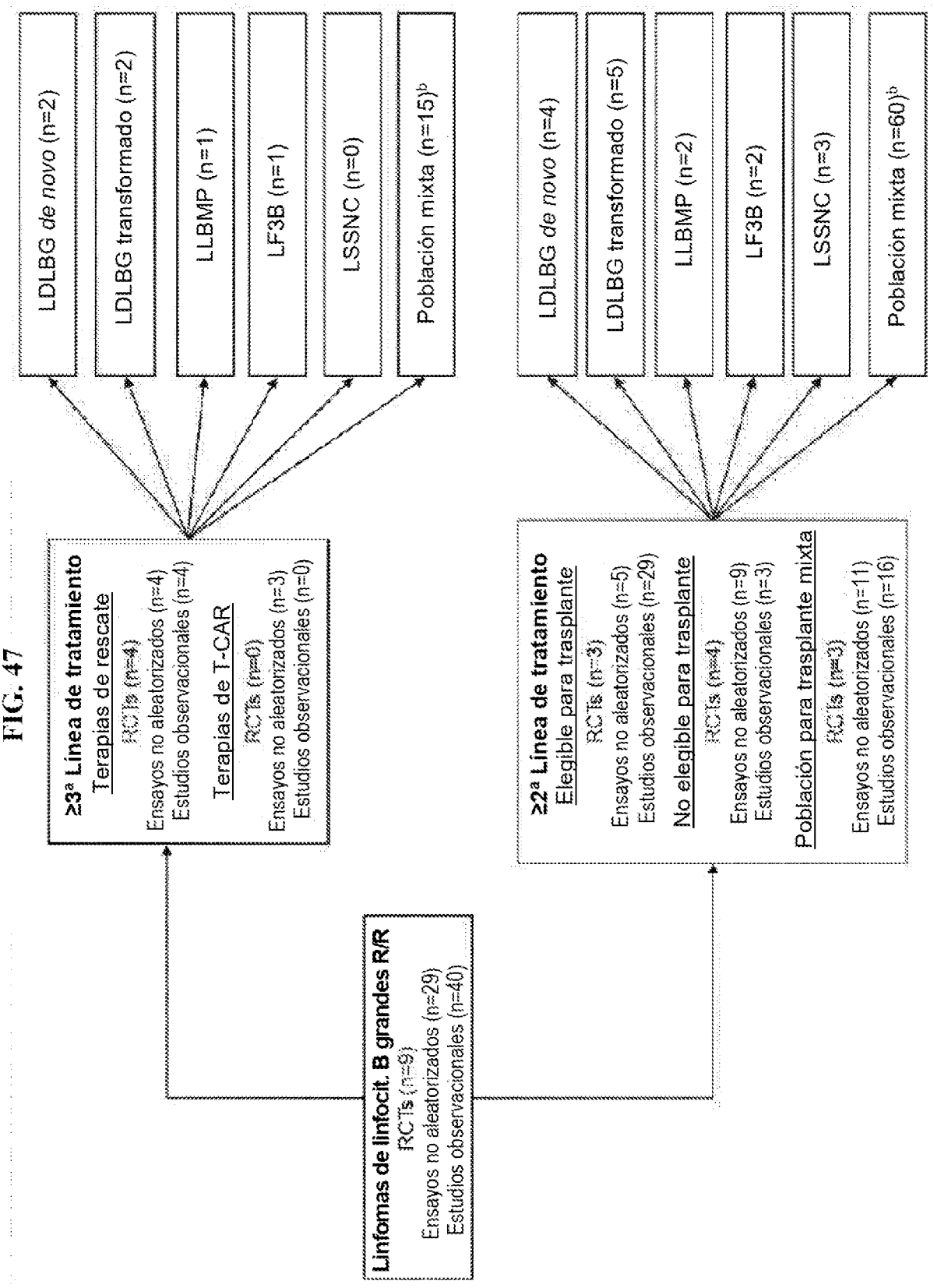


FIG. 47


Linfomas de linfocit. B grandes R/R
RCTs (n=9)
Ensayos no aleatorizados (n=29)
Estudios observacionales (n=40)
≥3ª Línea de tratamiento
Terapias de rescate
RCTs (n=4)
Ensayos no aleatorizados (n=4)
Estudios observacionales (n=4)
Terapias de T-CAR
RCTs (n=0)
Ensayos no aleatorizados (n=3)
Estudios observacionales (n=0)
LDLBG de novo (n=2)
LDLBG transformado (n=2)
LLBMP (n=1)
LF3B (n=1)
LSSNC (n=0)
Población mixta (n=15)b
≥2ª Línea de tratamiento
Elegible para trasplante
RCTs (n=3)
Ensayos no aleatorizados (n=5)
Estudios observacionales (n=29)
No elegible para trasplante
RCTs (n=4)
Ensayos no aleatorizados (n=9)
Estudios observacionales (n=3)
Población para trasplante mixta
RCTs (n=3)
Ensayos no aleatorizados (n=11)
Estudios observacionales (n=16)
LDLBG de novo (n=4)
LDLBG transformado (n=5)
LLBMP (n=2)
LF3B (n=2)
LSSNC (n=3)
Población mixta (n=60)b

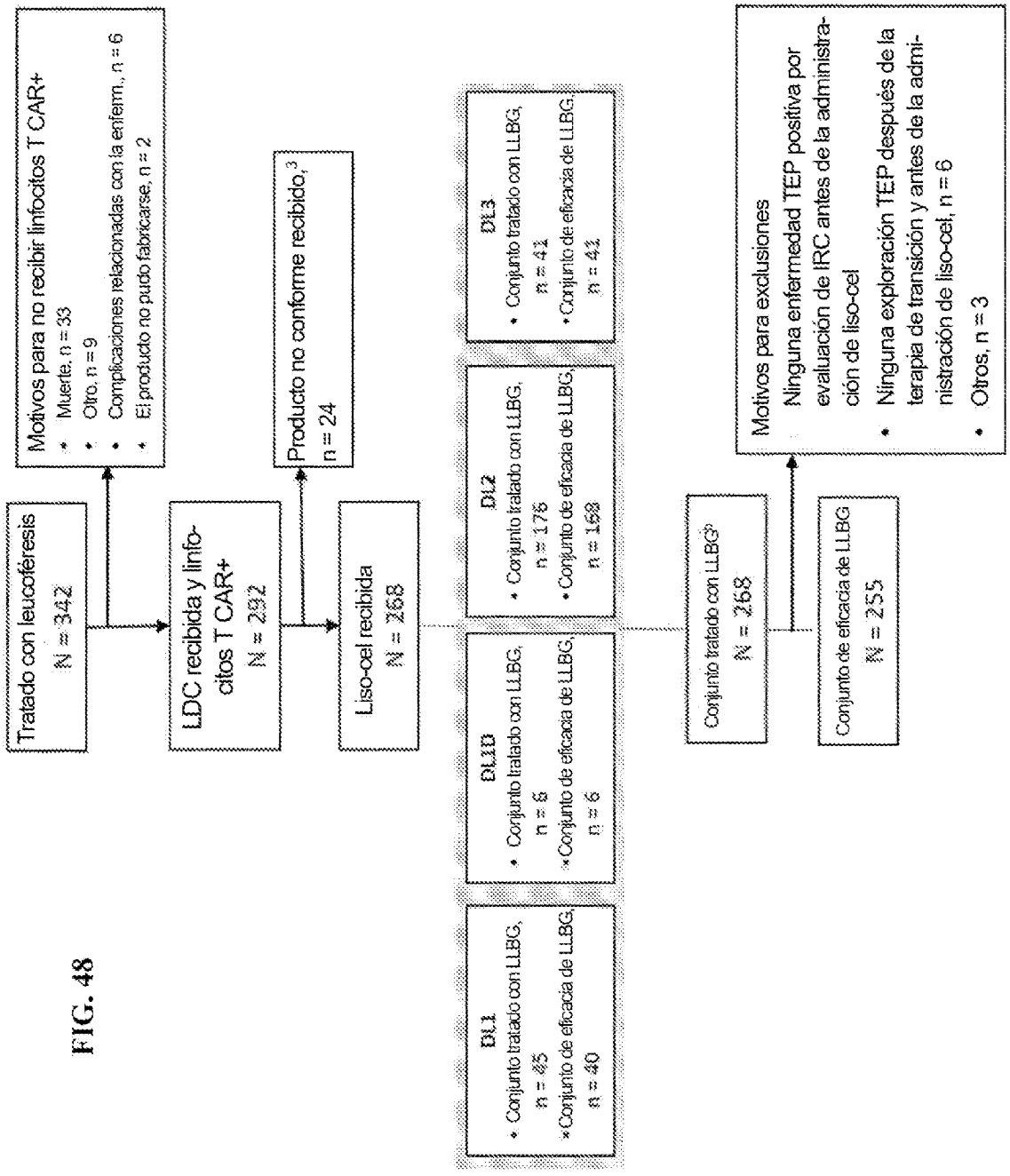

Tratado con leucoféresis
N = 342
Motivos para no recibir linfocitos T CAR+
• Muerte, n = 33
• Otro, n = 9
• Complicaciones relacionadas con la enferm., n = 6
• El producto no pudo fabricarse, n = 2
LDC recibida y linfocitos T CAR+
N = 292
Producto no conforme recibido,[3]
n = 24
Liso-cel recibida
N = 268
DL1
• Conjunto tratado con LLBG, n = 45
•Conjunto de eficacia de LLBG, n = 40
DL1D
• Conjunto tratado con LLBG, n = 6
•Conjunto de eficacia de LLBG, n = 6
DL2
• Conjunto tratado con LLBG, n = 176
• Conjunto de eficacia de LLBG, n = 168
DL3
• Conjunto tratado con LLBG, n = 42
• Conjunto de eficacia de LLBG, n = 41
Conjunto tratado con LLBG[b]
N = 268
Conjunto de eficacia de LLBG
N = 255
Motivos para exclusiones
• Ninguna enfermedad TEP positiva por evaluación de IRC antes de la administración de liso-cel
• Ninguna exploración TEP después de la terapia de transición y antes de la administración de liso-cel, n = 6
• Otros, n = 3

FIG. 48

FIG. 49A

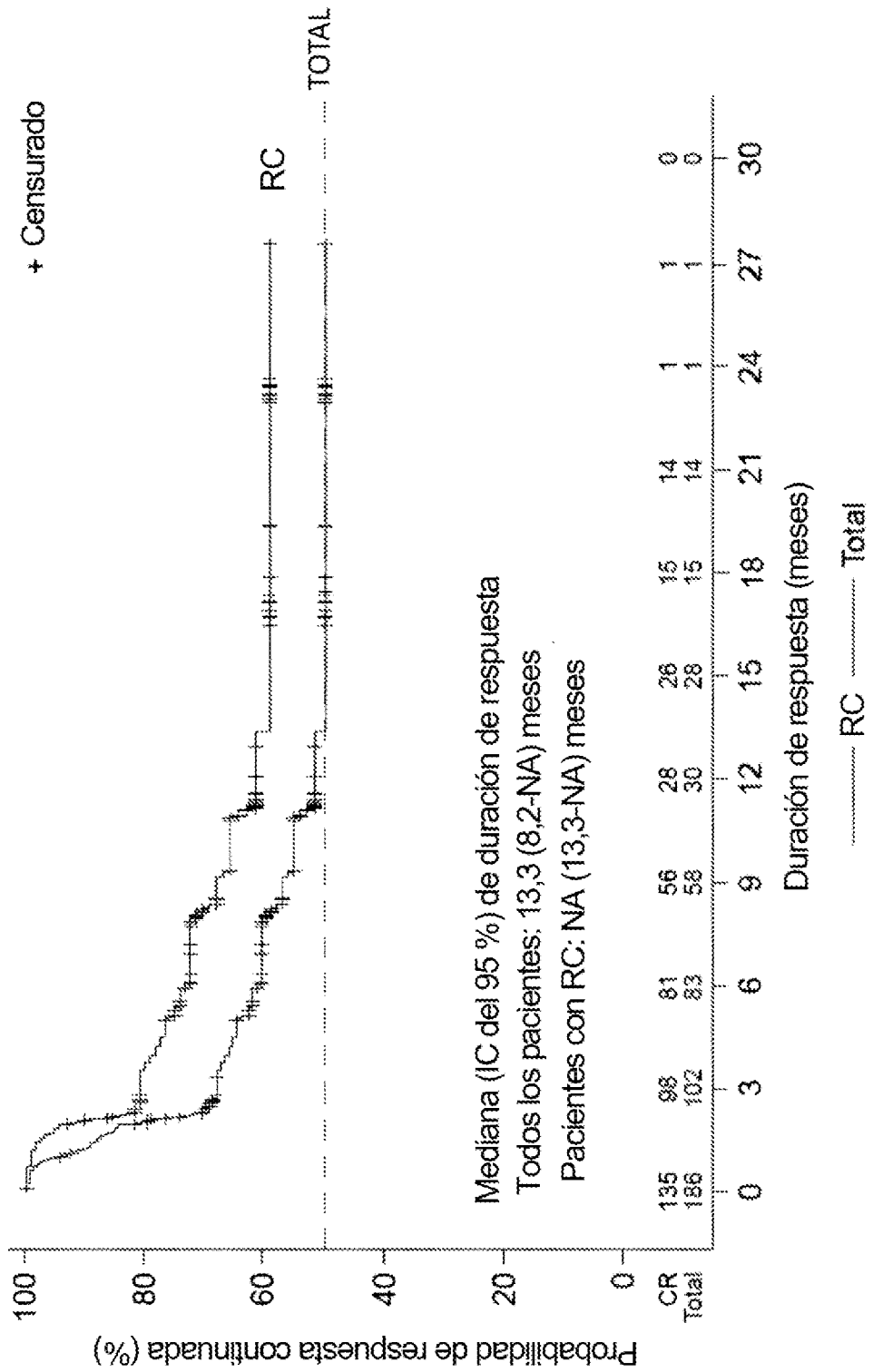

+ Censurado
RC
TOTAL
Probabilidad de respuesta continuada (%)
100
80
60
40
20
0
Mediana (IC del 95 %) de duración de respuesta
Todos los pacientes: 13,3 (8,2-NA) meses
Pacientes con RC: NA (13,3-NA) meses
CR 135 88 81 56 28 26 15 14 1 0
Total 186 102 83 58 30 28 15 14 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Duración de respuesta (meses)
RC
Total

FIG. 49B

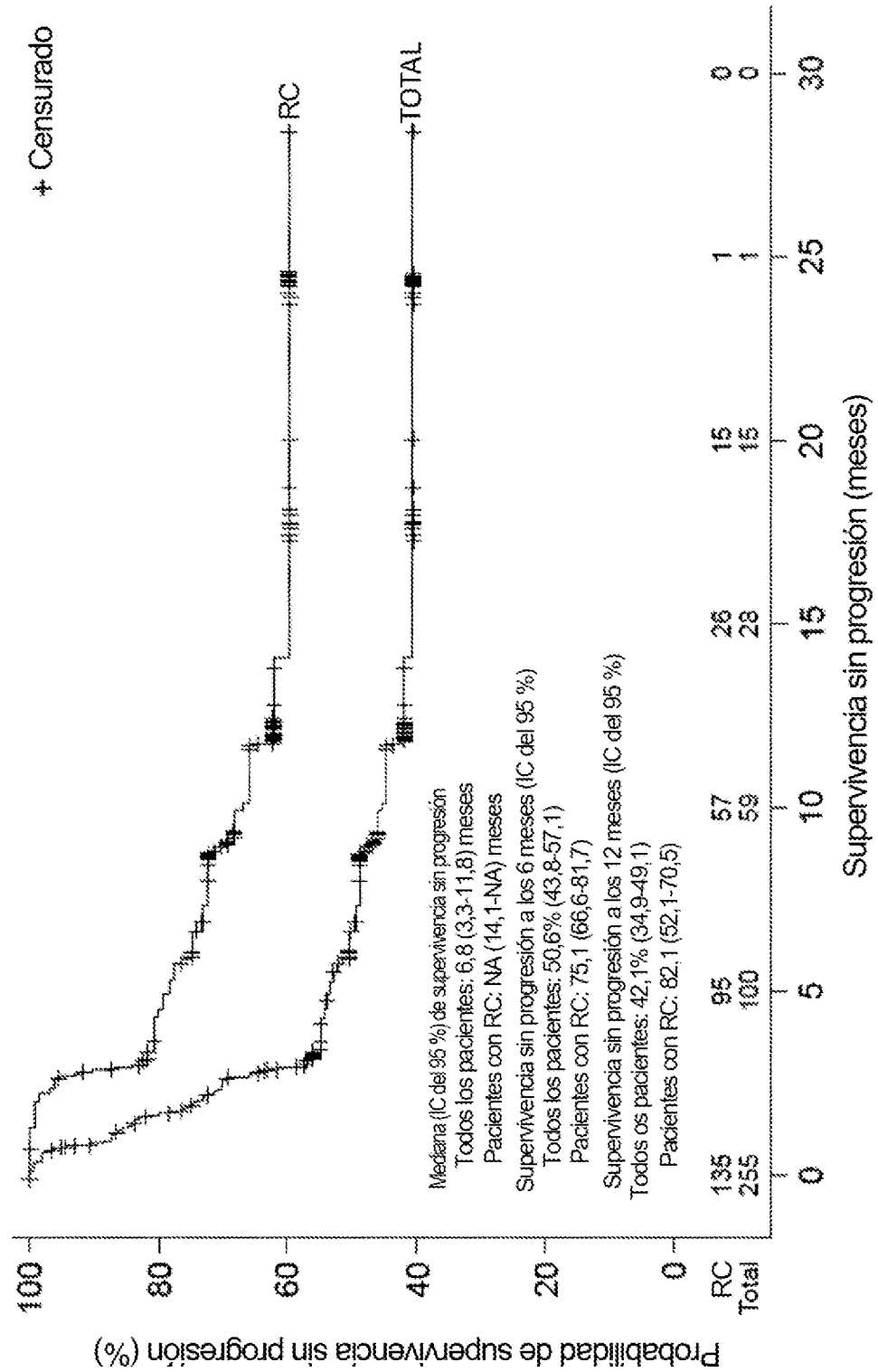

+ Censurado
RC
TOTAL
Probabilidad de supervivencia sin progresión (%)
100
80
60
40
20
0
Mediana (IC del 95 %) de supervivencia sin progresión
Todos los pacientes: 6,8 (3,3-11,8) meses
Pacientes con RC: NA (14,1-NA) meses
Supervivencia sin progresión a los 6 meses (IC del 95 %)
Todos los pacientes: 50,6% (43,8-57,1)
Pacientes con RC: 75,1 (66,6-81,7)
Supervivencia sin progresión a los 12 meses (IC del 95 %)
Todos os pacientes: 42,1% (34,9-49,1)
Pacientes con RC: 82,1 (52,1-70,5)
RC 135 95 57 26 15 1 0
Total 255 100 59 28 15 1 0
0 5 10 15 20 25 30
Supervivencia sin progresión (meses)
RC
Total

FIG. 49C

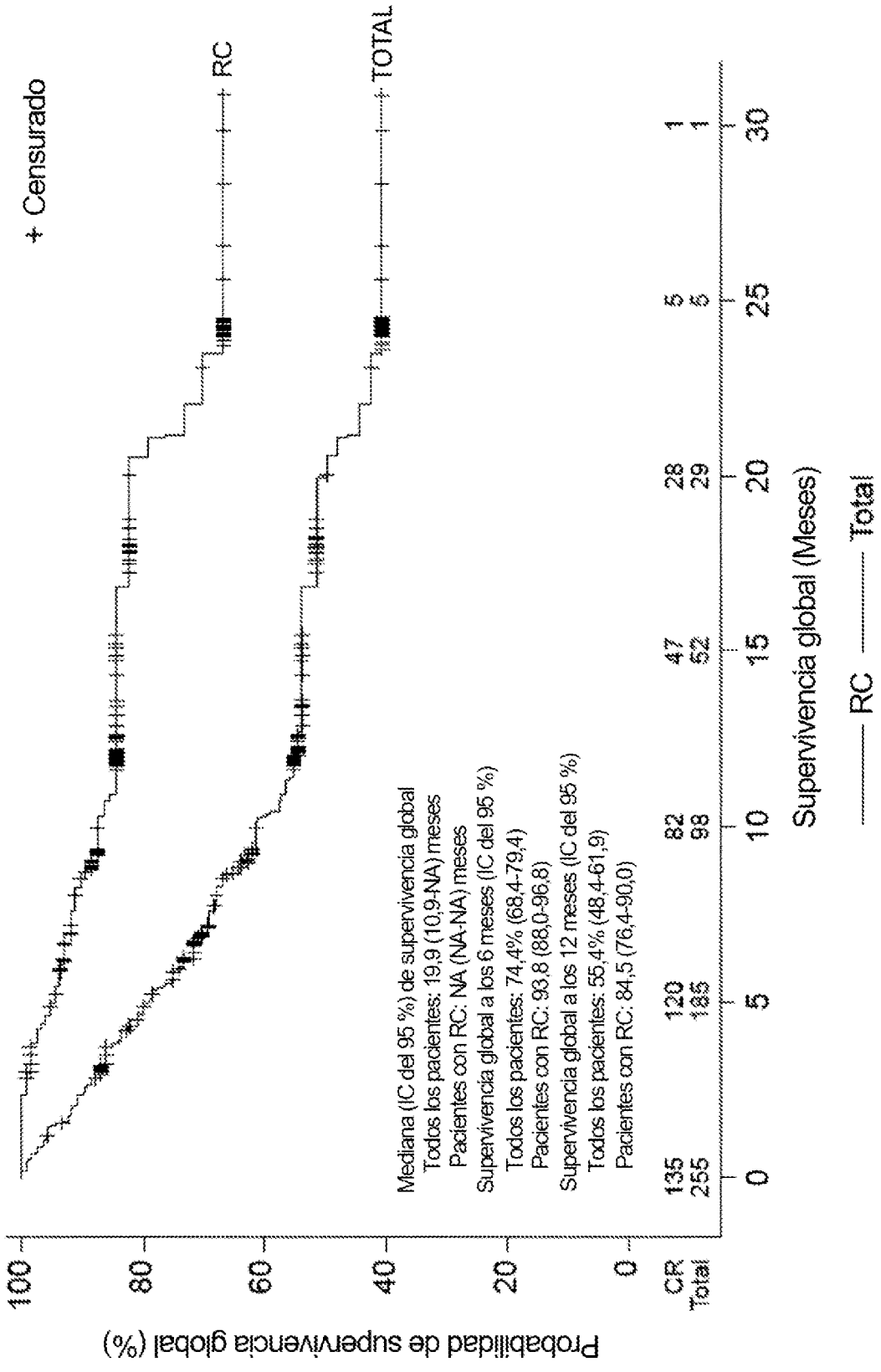

+ Censurado
RC
TOTAL
Probabilidad de supervivencia global (%)
100
80
60
40
20
0
Mediana (IC del 95 %) de supervivencia global
Todos los pacientes: 19,9 (10,9-NA) meses
Pacientes con RC: NA (NA-NA) meses
Supervivencia global a los 6 meses (IC del 95 %)
Todos los pacientes: 74,4% (68,4-79,4)
Pacientes con RC: 93,8 (88,0-96,8)
Supervivencia global a los 12 meses (IC del 95 %)
Todos los pacientes: 55,4% (48,4-61,9)
Pacientes con RC: 84,5 (76,4-90,0)
CR 135 120 82 47 28 5 1
Total 255 185 98 52 29 5 1
0 5 10 15 20 25 30
Supervivencia global (Meses)
RC
Total

FIG. 50A

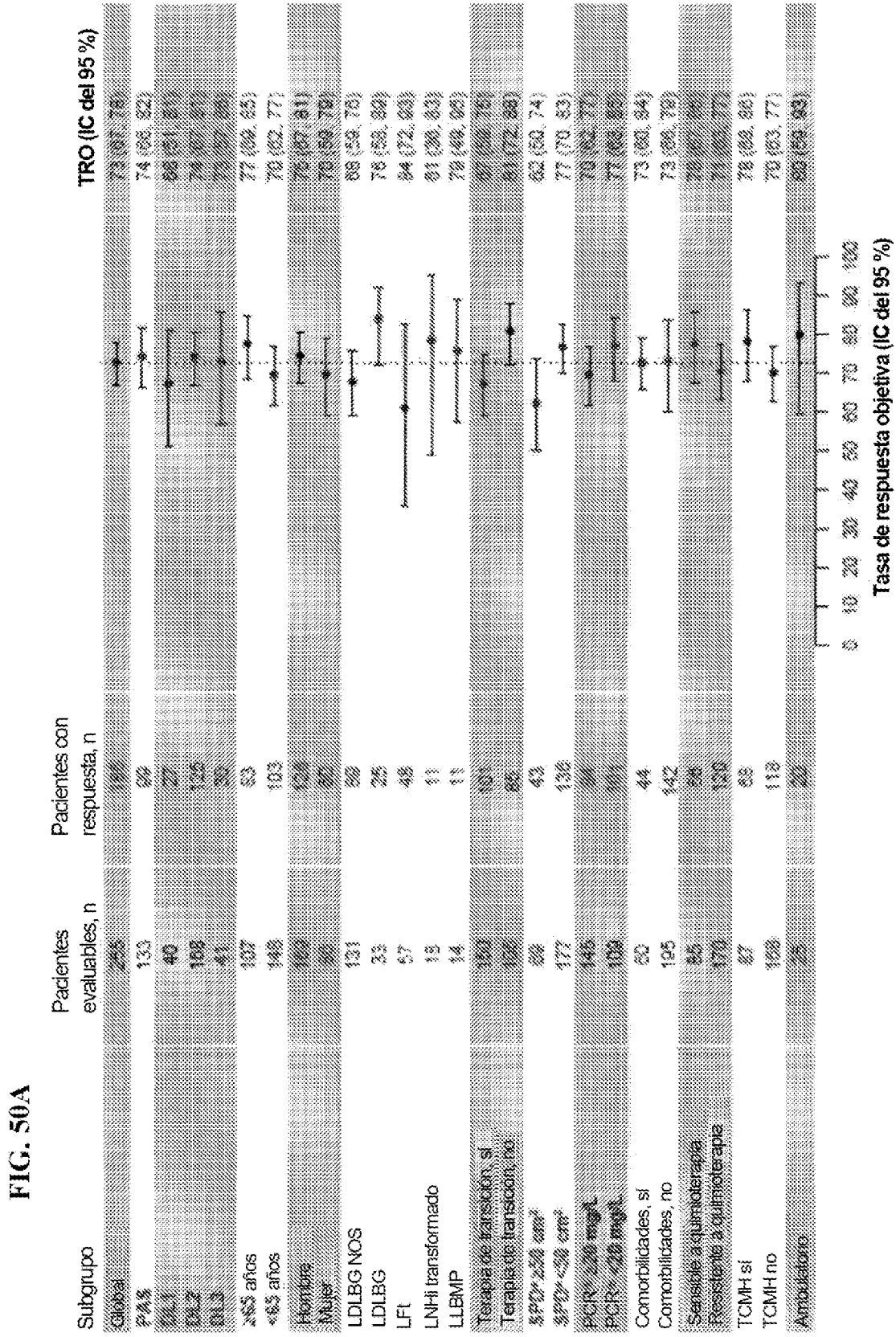

Subgrupo
Pacientes evaluables, n
Pacientes con respuesta, n
TRO (IC del 95 %)
Global 258 197 73 (67, 78)
FAB
M1 133 99 74 (65, 82)
M2 40 27 68 (51, 81)
M3 68 55 81 (69, 90)
M4/5 41 32 78 (62, 89)
≥65 años 107 83 77 (68, 85)
<65 años 148 103 70 (62, 77)
Hombre 152 106 70 (62, 77)
Mujer 106 91 86 (77, 92)
LDLBG NOS 131 98 75 (67, 82)
LDLBG 33 26 79 (63, 90)
LFI 57 48 84 (72, 93)
LNHi transformado 13 11 85 (55, 98)
LLBMP 14 11 79 (49, 95)
Terapia de transición, sí 150 101 67 (59, 75)
Terapia de transición, no 108 96 89 (82, 94)
SPD* ≥50 cm² 68 43 63 (50, 74)
SPD* <50 cm² 177 136 77 (70, 83)
PCR ≥20 mg/L 145 99 68 (60, 77)
PCR <20 mg/L 109 95 87 (80, 93)
Comorbilidades, sí 60 44 73 (60, 84)
Comorbilidades, no 195 142 73 (66, 79)
Sensible a quimioterapia 85 66 78 (67, 87)
Resistente a quimioterapia 170 130 76 (69, 83)
TCMH sí 87 68 78 (68, 86)
TCMH no 168 118 70 (63, 77)
Ambulatorio 25 22 88 (69, 98)
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Tasa de respuesta objetiva (IC del 95 %)

FIG. 50B

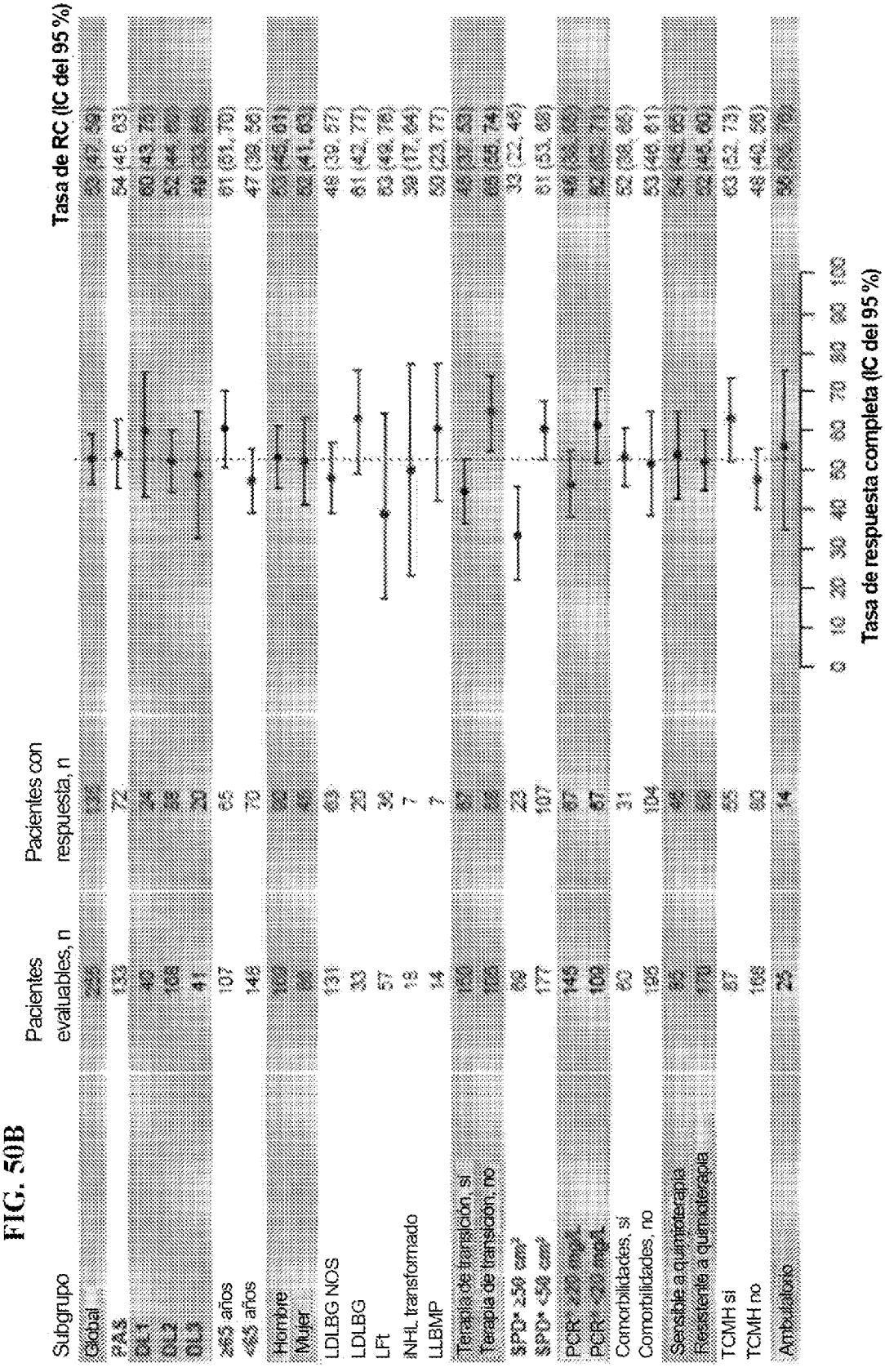

Subgrupo
Pacientes evaluables, n
Pacientes con respuesta, n
Tasa de RC (IC del 95 %)
Global 226 142 63 (56, 69)
≥ A3 133 72 54 (46, 63)
GL1 40 24 60 (43, 77)
GL2 108 68 63 (54, 72)
GL3 41 20 49 (33, 65)
≥65 años 107 65 61 (51, 70)
<65 años 146 70 47 (39, 56)
Hombre 177 96 54 (46, 61)
Mujer 76 46 61 (49, 72)
LDLBG NOS 131 63 48 (39, 57)
LDLBG 33 29 88 (72, 96)
LFt 57 30 53 (39, 66)
iNHL transformado 19 7 37 (16, 62)
LLBMP 14 7 50 (23, 77)
Terapia de transición, sí 160 97 61 (53, 68)
Terapia de transición, no 66 45 68 (55, 79)
$PD* ≥50 cm² 69 23 33 (22, 46)
$PD* <50 cm² 177 107 61 (53, 68)
PCR* ≥20 mg/L 145 87 60 (52, 68)
PCR* <20 mg/L 100 67 67 (57, 77)
Comorbilidades, sí 60 31 52 (38, 66)
Comorbilidades, no 195 104 53 (46, 61)
Sensible a quimioterapia 222 139 63 (56, 69)
Resistente a quimioterapia 70 39 56 (45, 68)
TCMH si 87 55 63 (52, 73)
TCMH no 168 82 49 (40, 58)
Ambulatorio 25 14 56 (35, 76)
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Tasa de respuesta completa (IC del 95 %)

FIG. 51A

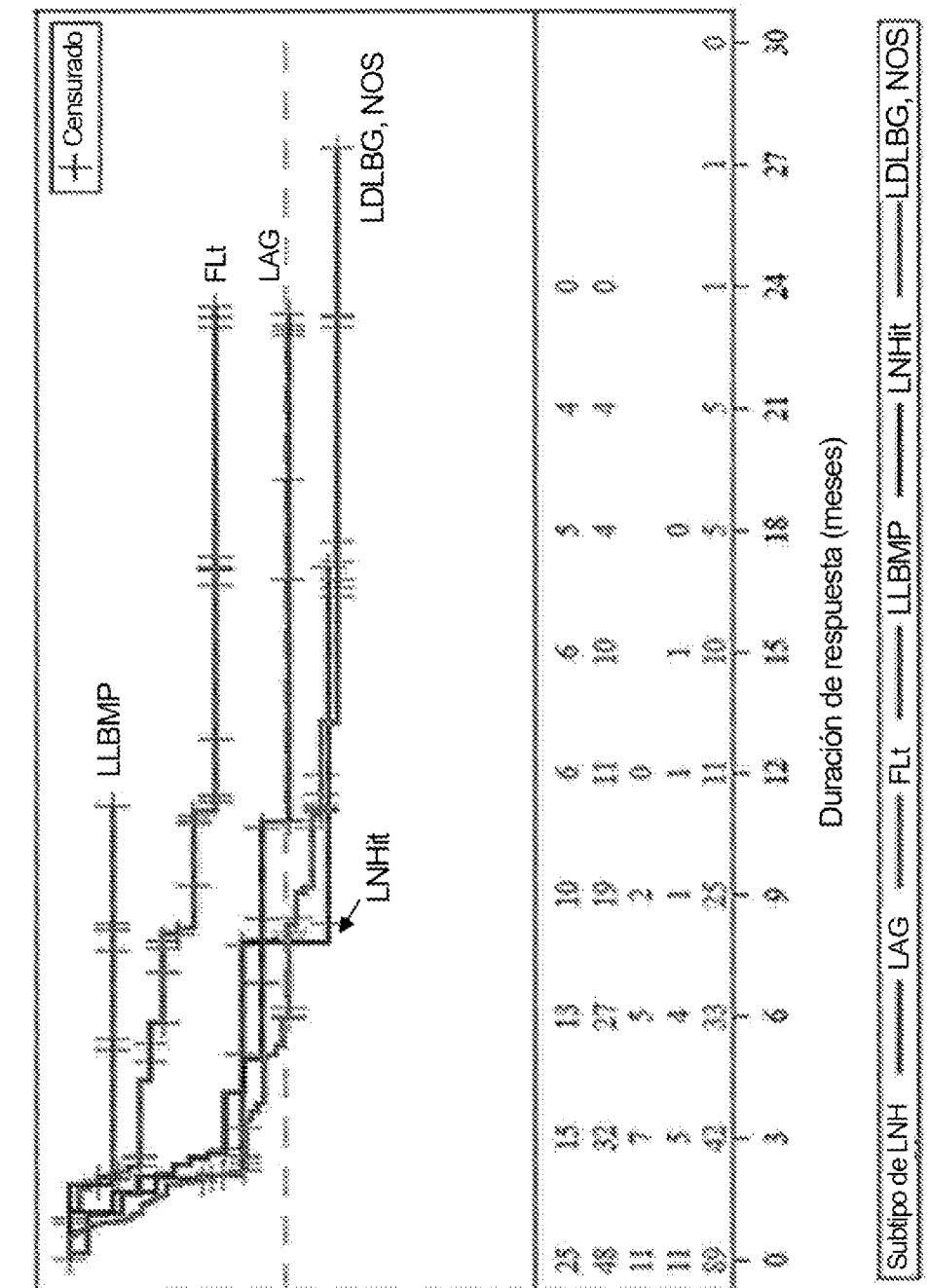

Censurado
LLBMP
FLt
LAG
LDLBG, NOS
LNHit
Probabilidad de respuesta continuada, (%)
100
80
60
40
20
0
LAG 23 15 13 10 6 6 5 4 0
FLt 48 32 27 19 11 10 4 4 0
LLBMP 11 7 5 2 0
LNHit 11 5 4 1 1 1 0
LDLBG, NOS 80 43 33 25 11 10 5 5 1 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Duración de respuesta (meses)
Subtipo de LNH
LAG
FLt
LLBMP
LNHit
LDLBG, NOS

FIG. 51B

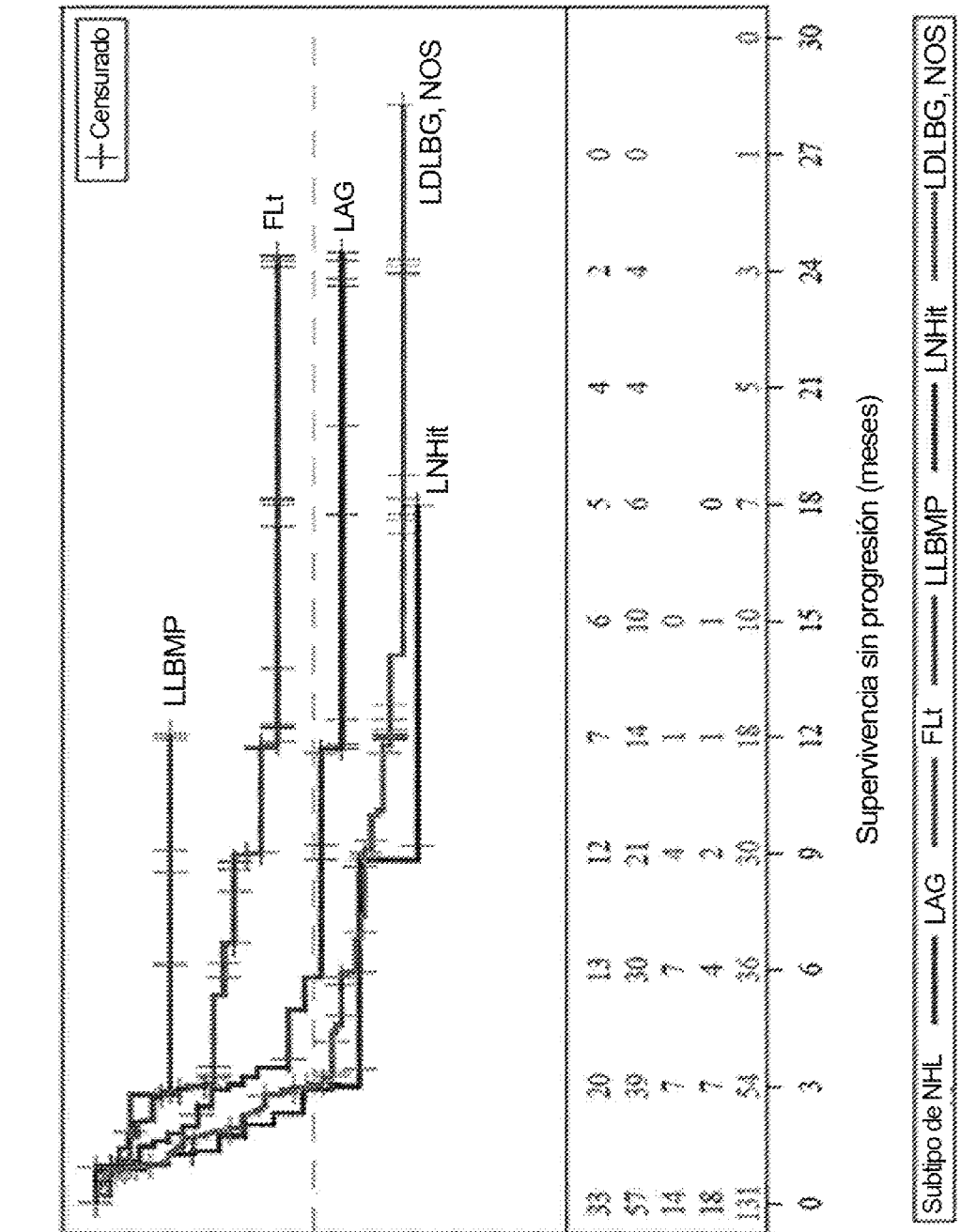

Censurado
LLBMP
FLt
LAG
LDLBG, NOS
LNHit
Probabilidad sin progresión
100
80
60
40
20
0
LAG 33 30 13 12 7 6 5 4 2 0
FLt 57 39 30 21 14 10 6 4 4 0
LLBMP 14 7 7 4 1 0
LNHit 18 7 4 2 1 1 0
LDLBG, NOS 131 53 36 30 18 10 7 5 3 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Supervivencia sin progresión (meses)
Subtipo de NHL LAG FLt LLBMP LNHit LDLBG, NOS

FIG. 51C

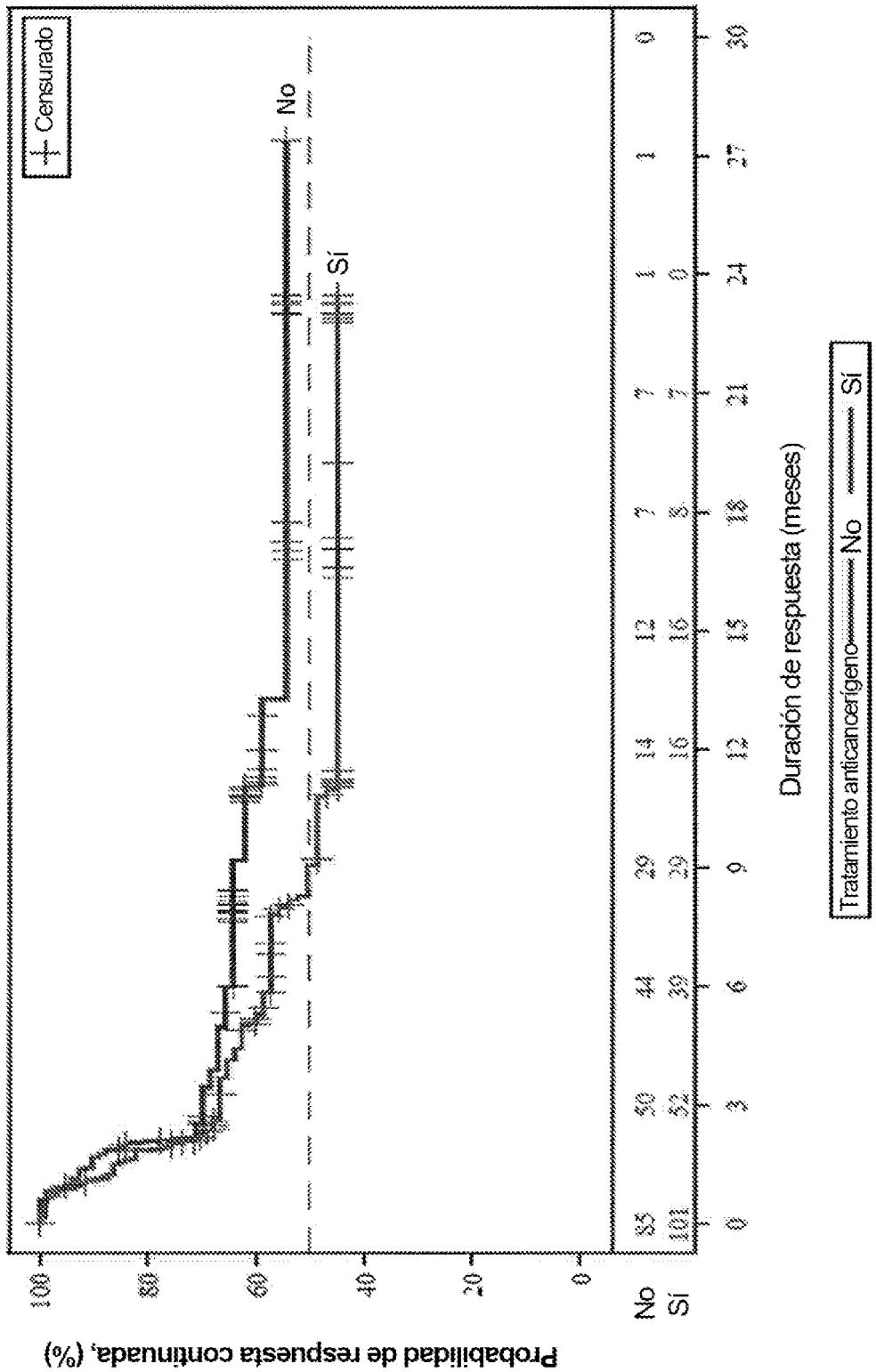

Probabilidad de respuesta continuada, (%)
100
80
60
40
20
0
Censurado
No
Sí
No 85 50 44 29 14 12 7 7 1 1 0
Sí 101 52 39 29 16 16 8 7 1 0 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Duración de respuesta (meses)
Tratamiento anticancerígeno
No
Sí

FIG. 51D

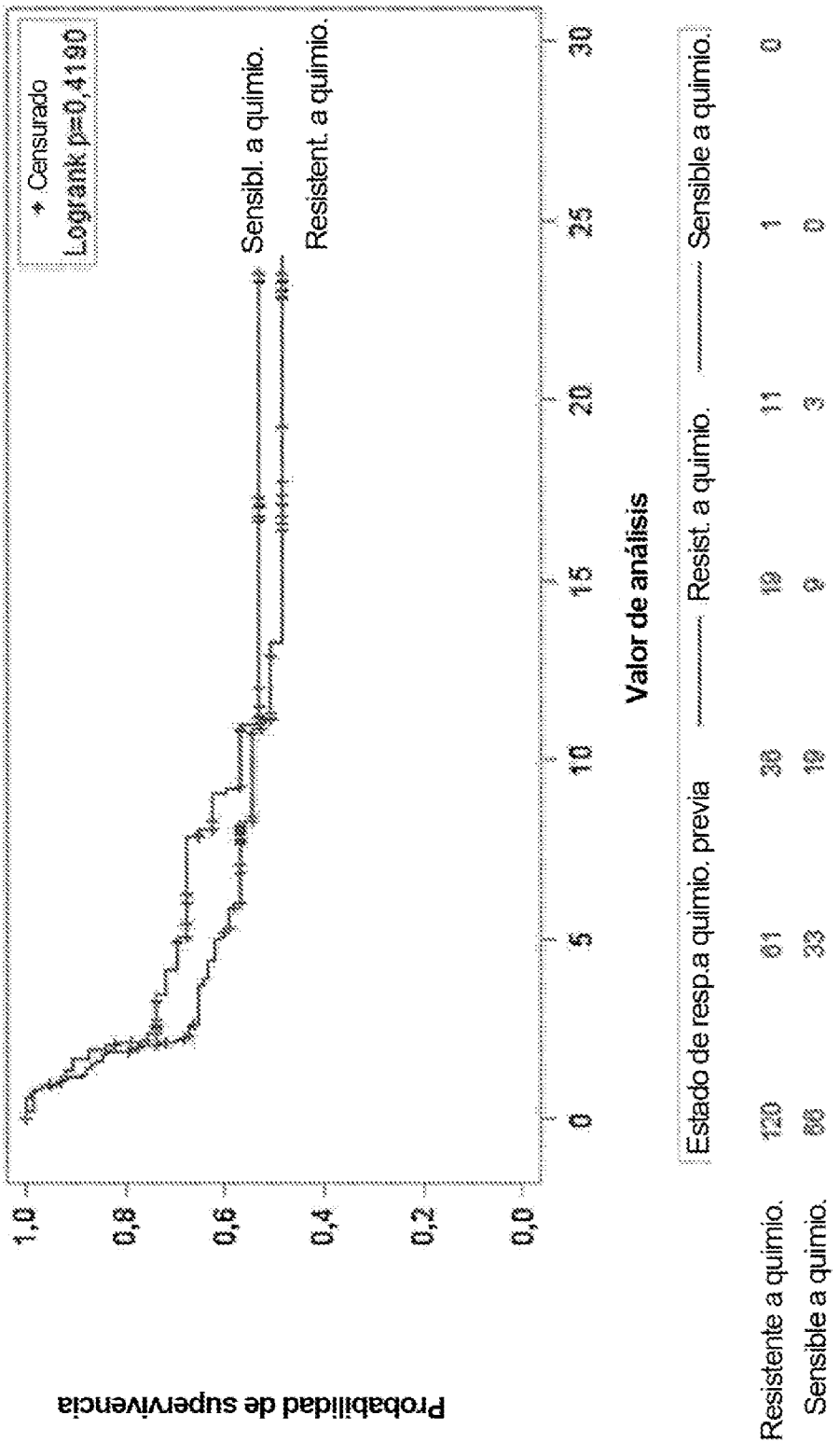

Probabilidad de supervivencia
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
+ Censurado
Logrank p=0,4190
Sensibl. a quimio.
Resistent. a quimio.
0
5
10
15
20
25
30
Valor de análisis
Estado de resp.a quimio. previa
Resist. a quimio.
Sensible a quimio.
Resistente a quimio. 120 61 38 19 11 1 0
Sensible a quimio. 86 33 19 9 3 0

FIG. 51E

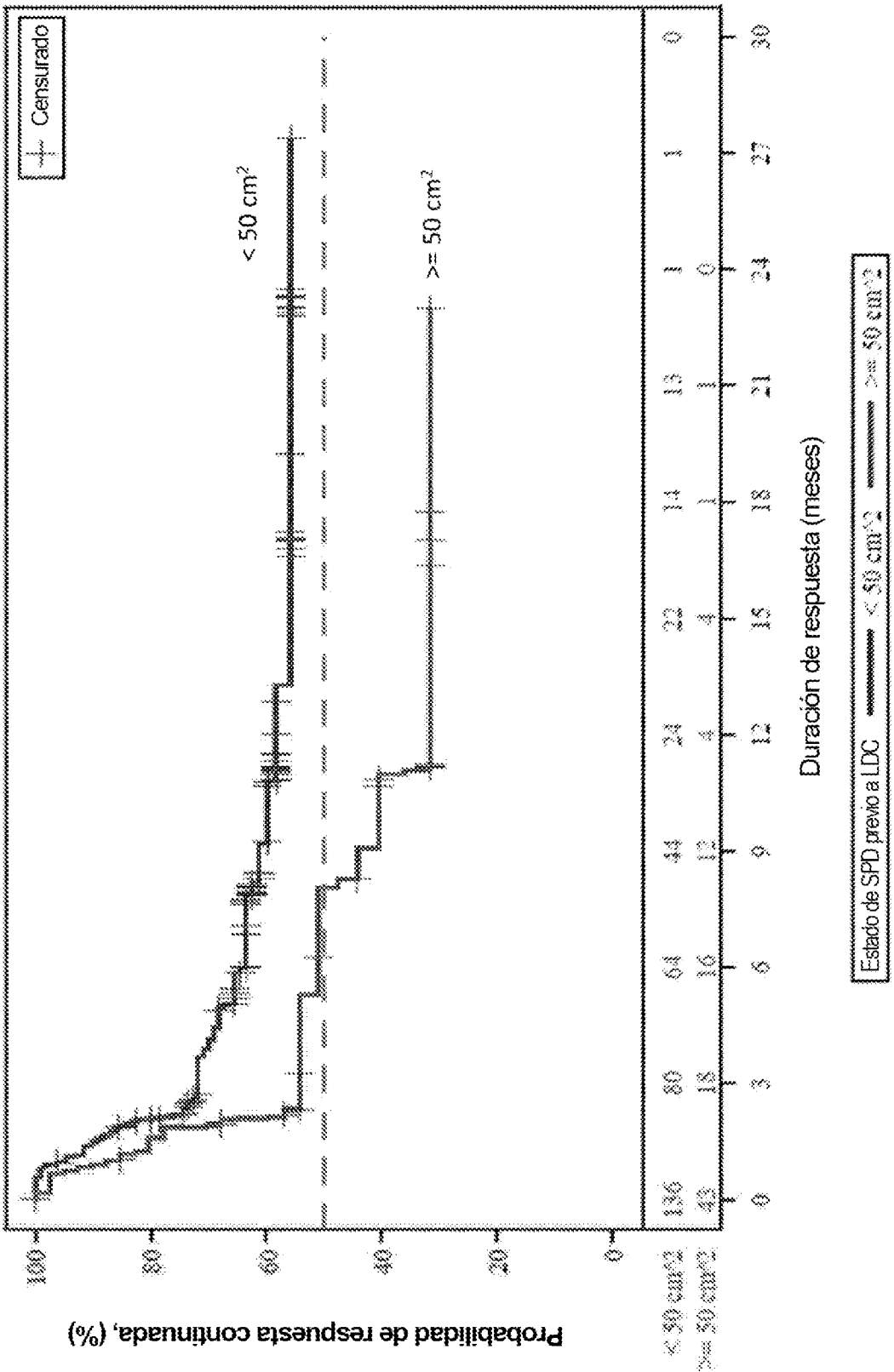

Censurado
< 50 cm²
>= 50 cm²
Probabilidad de respuesta continuada, (%)
100
80
60
40
20
0
< 50 cm^2 136 80 64 44 24 22 14 4 1 1 1 0
>= 50 cm^2 43 18 16 12 4 4 1 1 1 0 0 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Duración de respuesta (meses)
Estado de SPD previo a LDC
< 50 cm^2
>= 50 cm^2

FIG. 51F

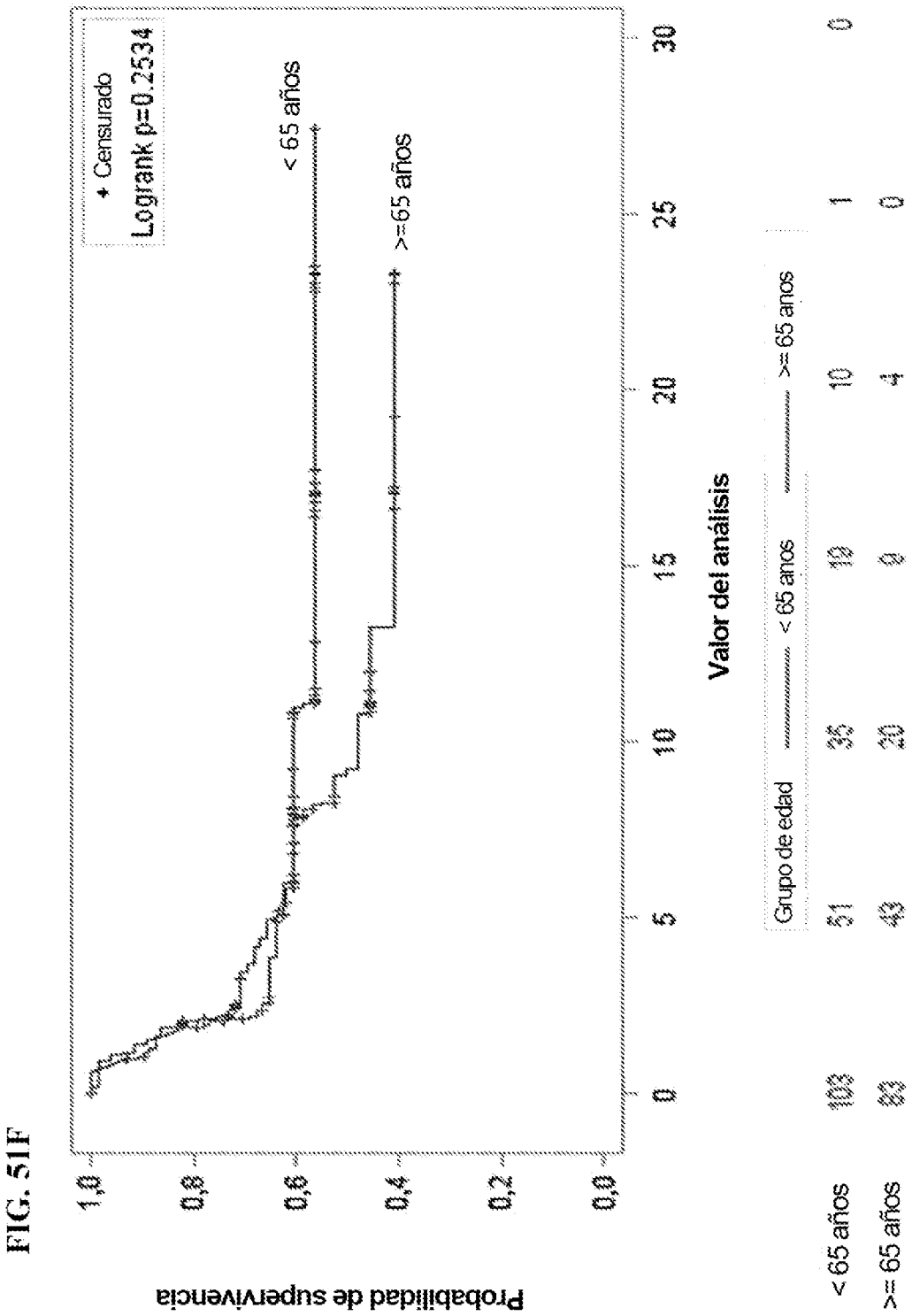

Censurado
Logrank p=0.2534
< 65 años
>=65 años
Probabilidad de supervivencia
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
0
5
10
15
20
25
30
Valor del análisis
Grupo de edad
< 65 anos
>= 65 anos
< 65 años 103 51 35 19 10 1 0
>= 65 años 83 43 20 9 4 0

FIG. 51G

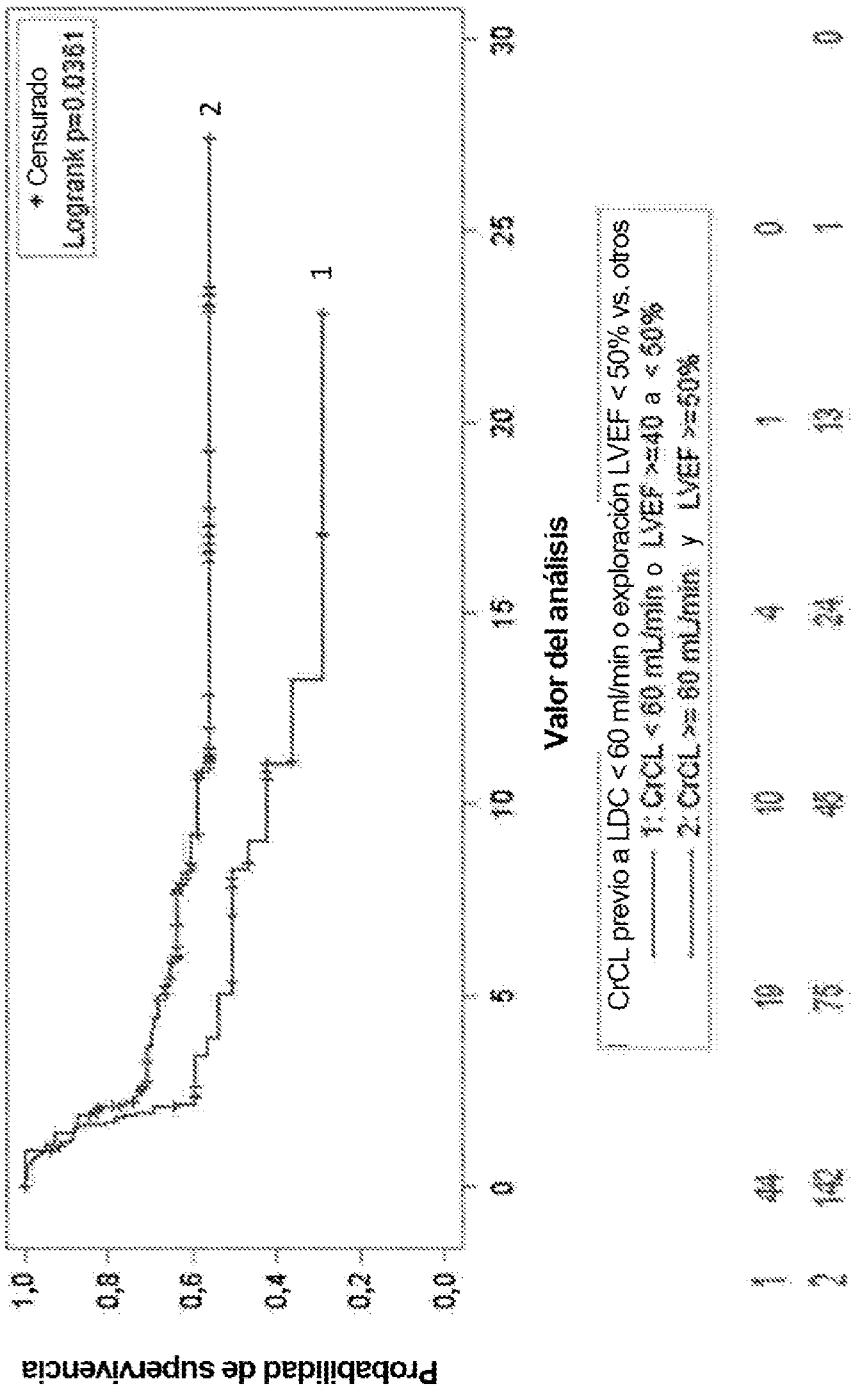

Probabilidad de supervivencia
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
* Censurado
Logrank p=0.0361
2
1
0
5
10
15
20
25
30
Valor del análisis
CrCL previo a LDC < 60 ml/min o exploración LVEF < 50% vs. otros
1: CrCL < 60 mL/min o LVEF >=40 a < 50%
2: CrCL >= 60 mL/min y LVEF >=50%
1 44 19 10 4 1 0
2 142 75 40 24 13 1 0

FIG. 52A

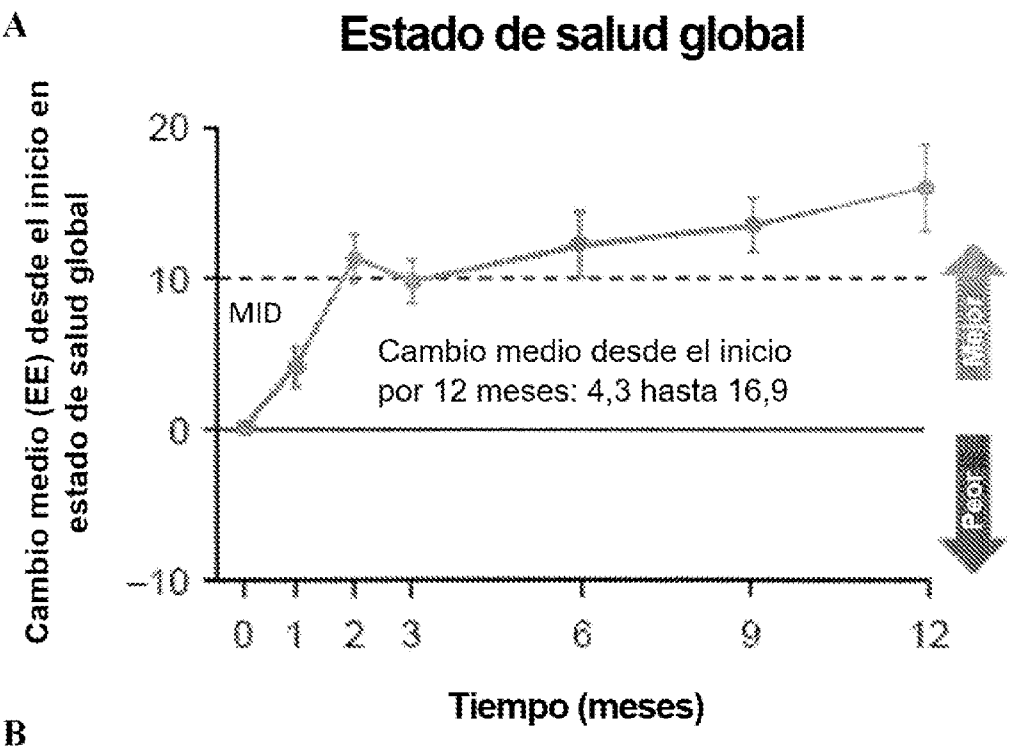


FIG. 52B

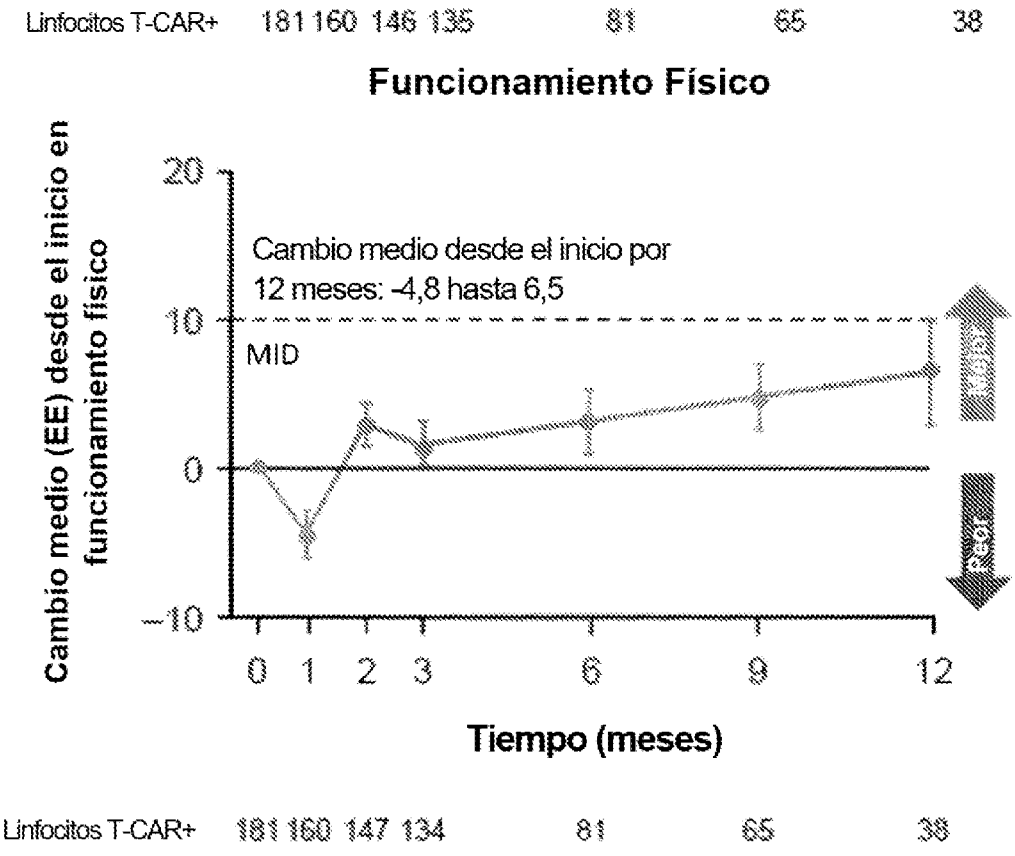


FIG. 53A

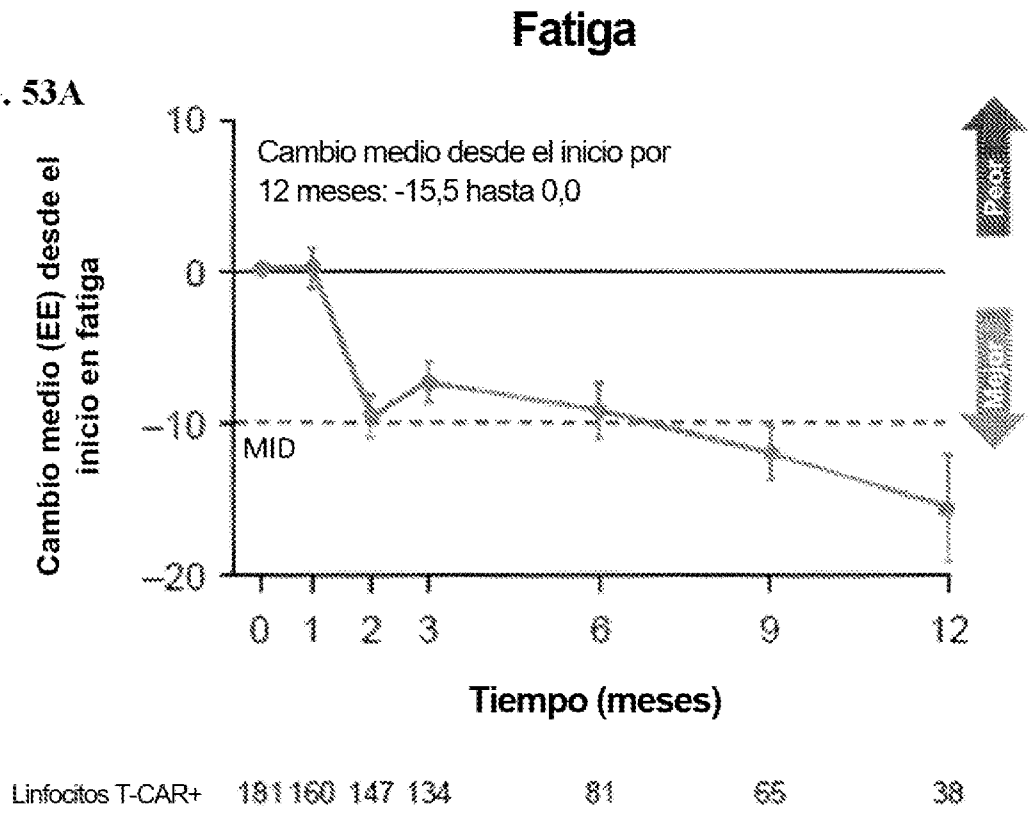


FIG. 53B

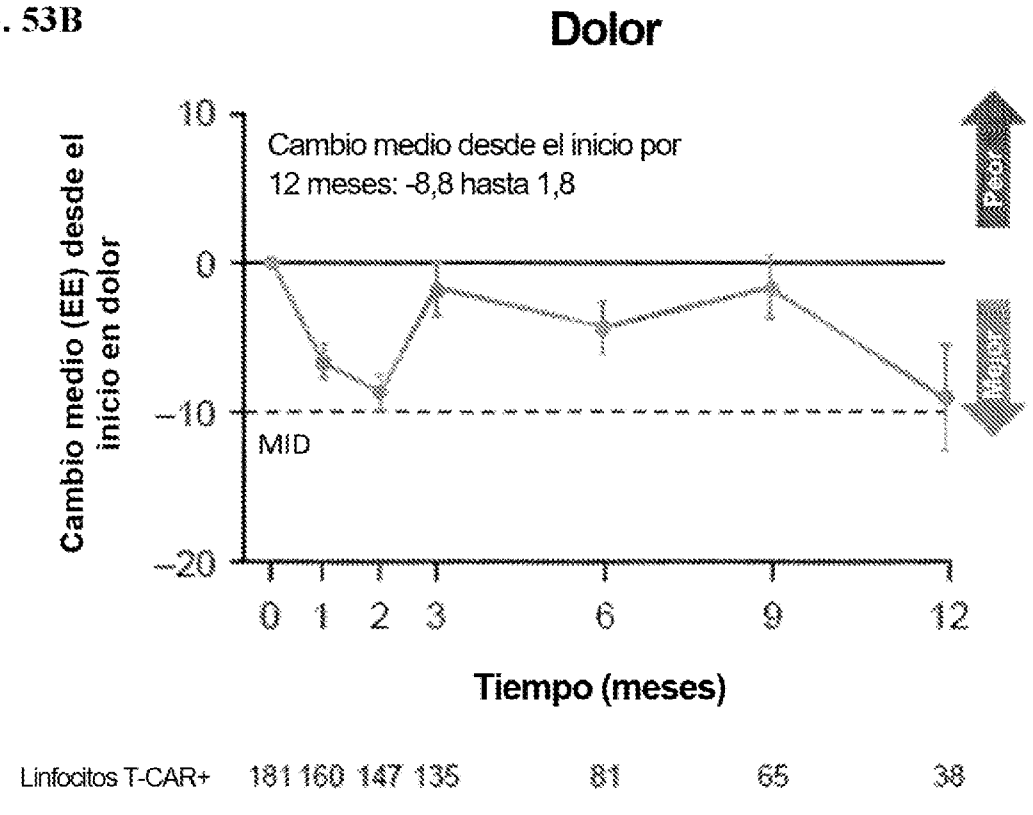


FIG. 54A

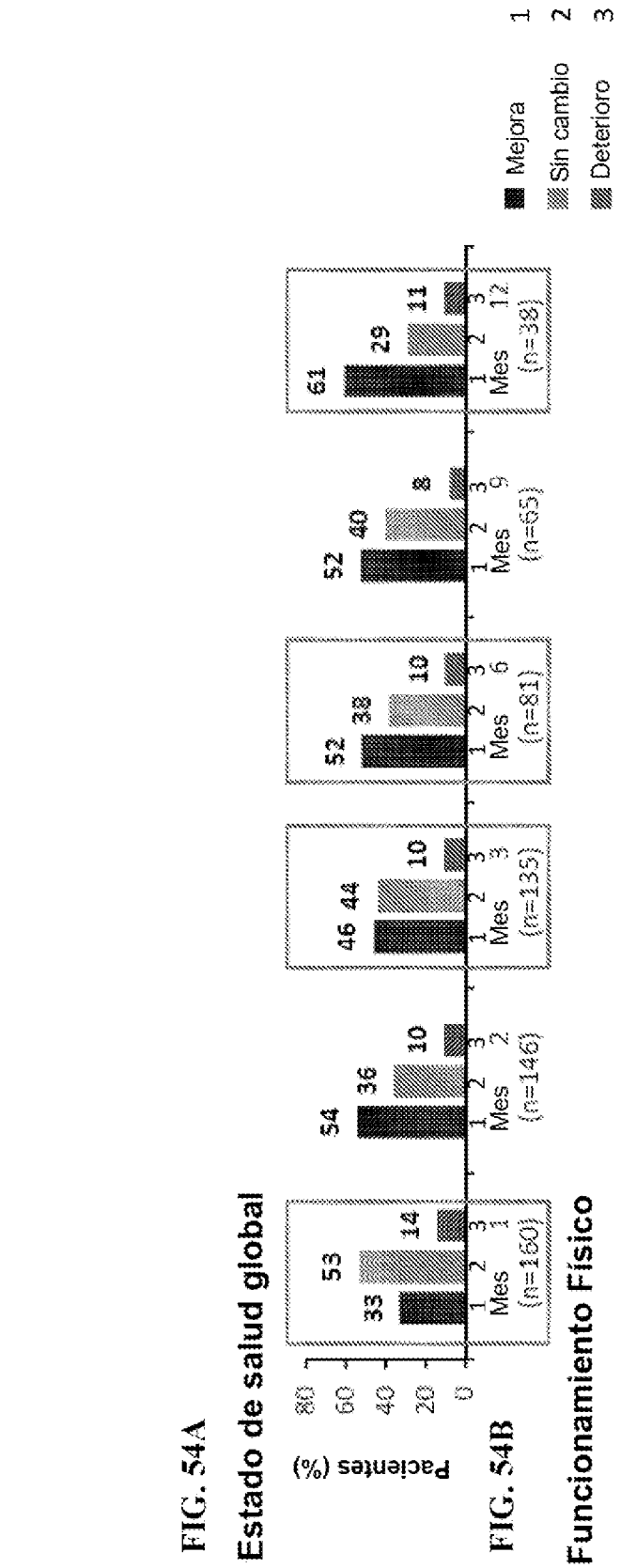


FIG. 54B

FIG. 54C

Fatiga

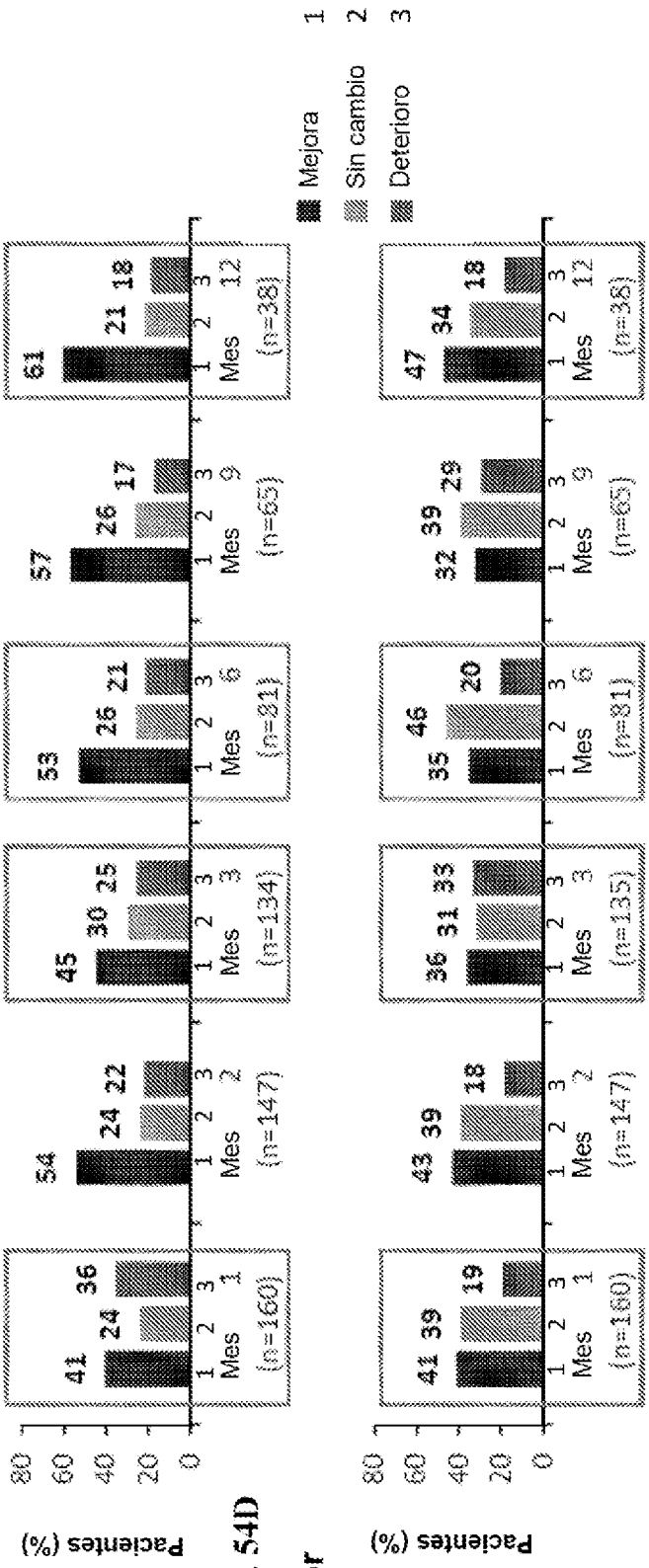


FIG. 54D

Dolor

FIG. 55A

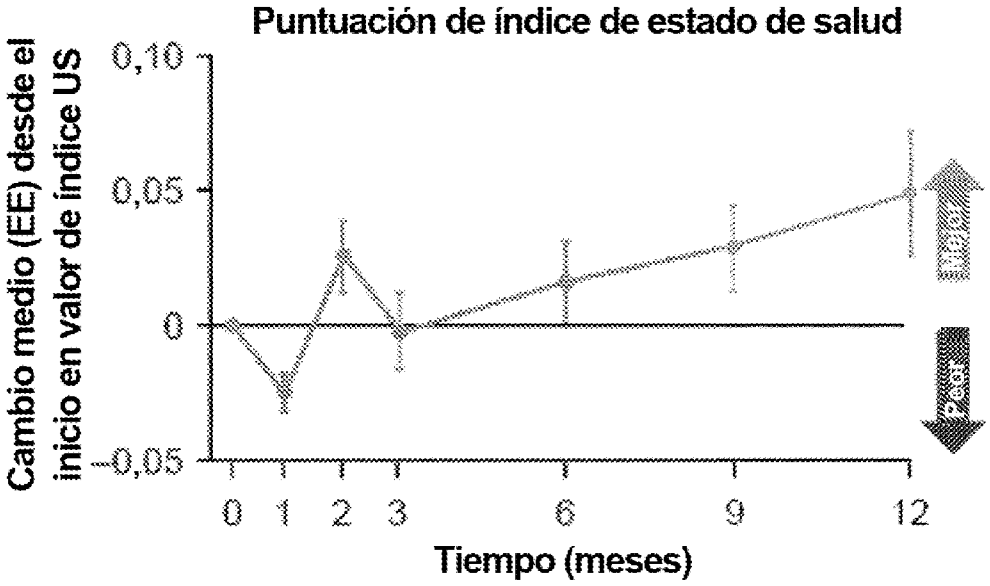


FIG. 55B

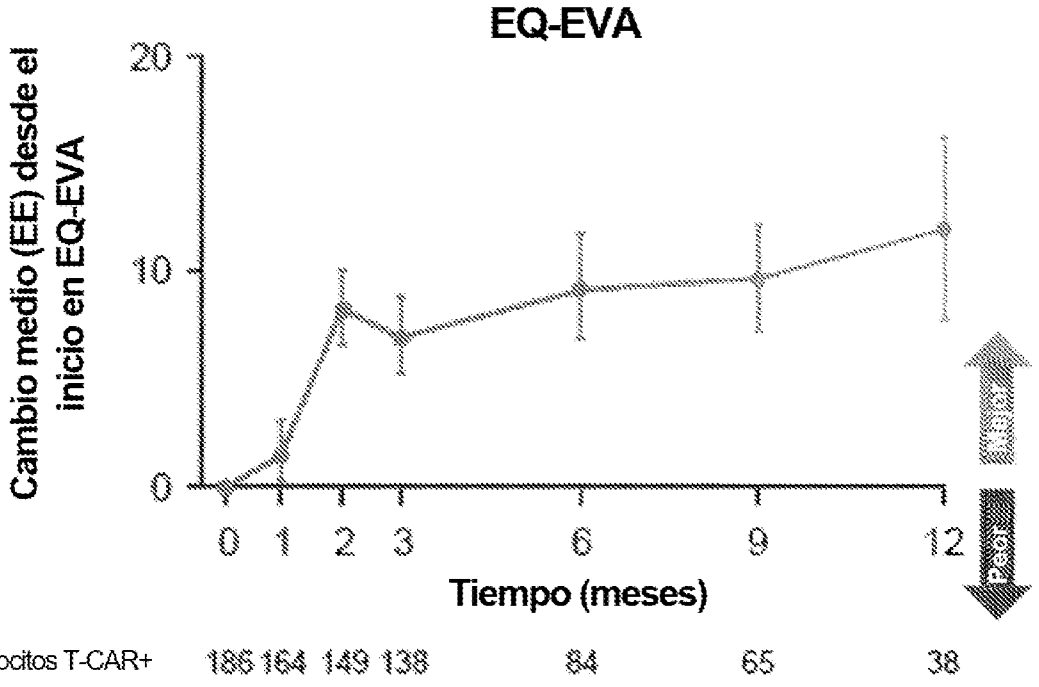


FIG. 56

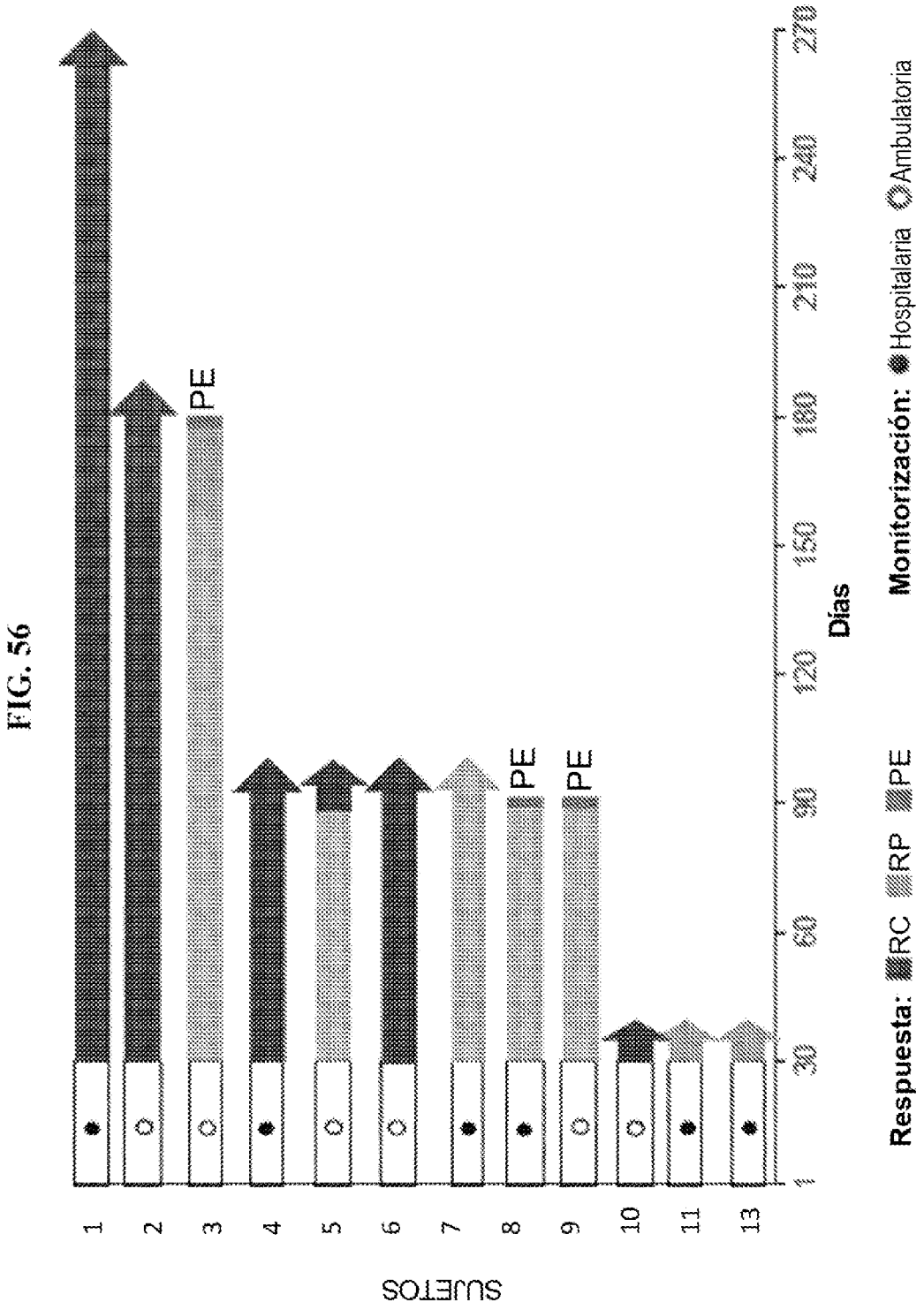

SUJETOS
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
13
PE
PE
PE
Días
1
30
60
90
120
150
180
210
240
270
Respuesta: RC RP PE
Monitorización: Hospitalaria Ambulatoria

FIG. 57

TRATAMIENTO PARA SLC Y AN

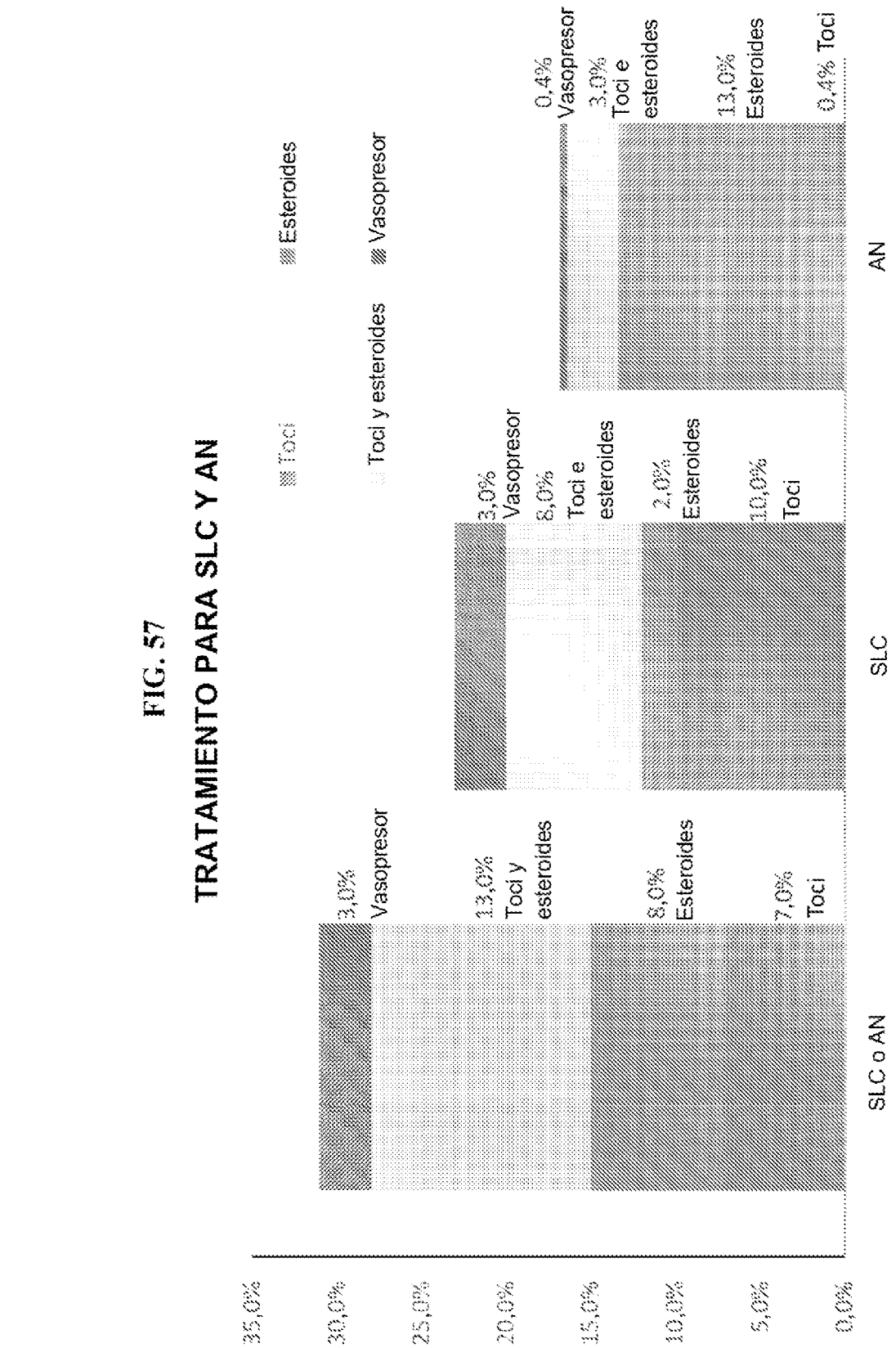


FIG. 58

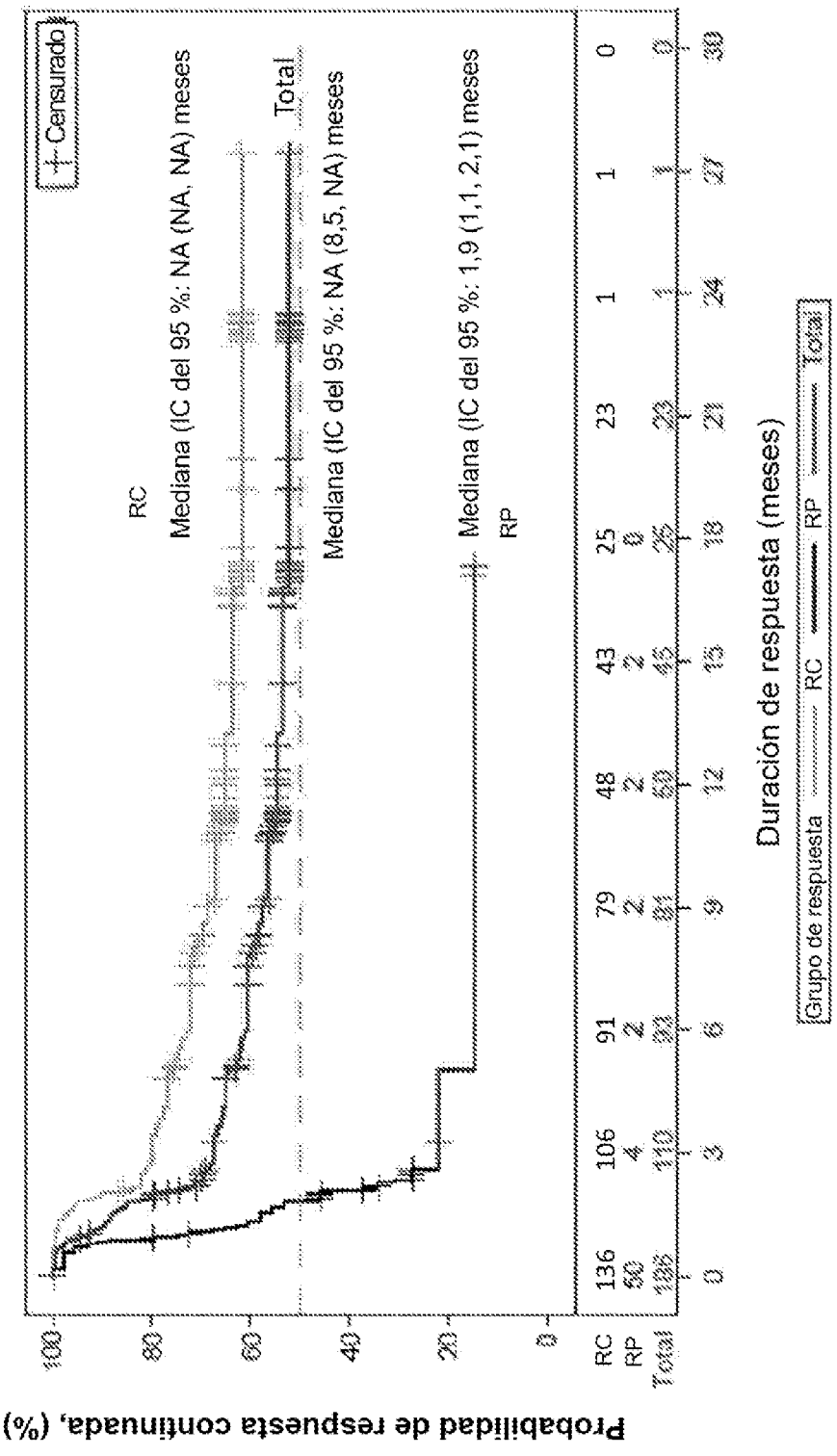

Mediana de seguimiento (IC del 95 %), 12 (11,2-16,7) meses
Censurado
RC
Mediana (IC del 95 %: NA (NA, NA) meses
Total
Mediana (IC del 95 %: NA (8,5, NA) meses
RP
Mediana (IC del 95 %: 1,9 (1,1, 2,1) meses
Probabilidad de respuesta continuada, (%)
100
80
60
40
20
0
RC 136 106 91 79 48 43 25 23 1 1 0
RP 60 4 2 2 2 2 0 0 0 0 0
Total 196 110 93 81 50 45 25 23 1 1 0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Duración de respuesta (meses)
Grupo de respuesta RC RP Total

FIG. 59

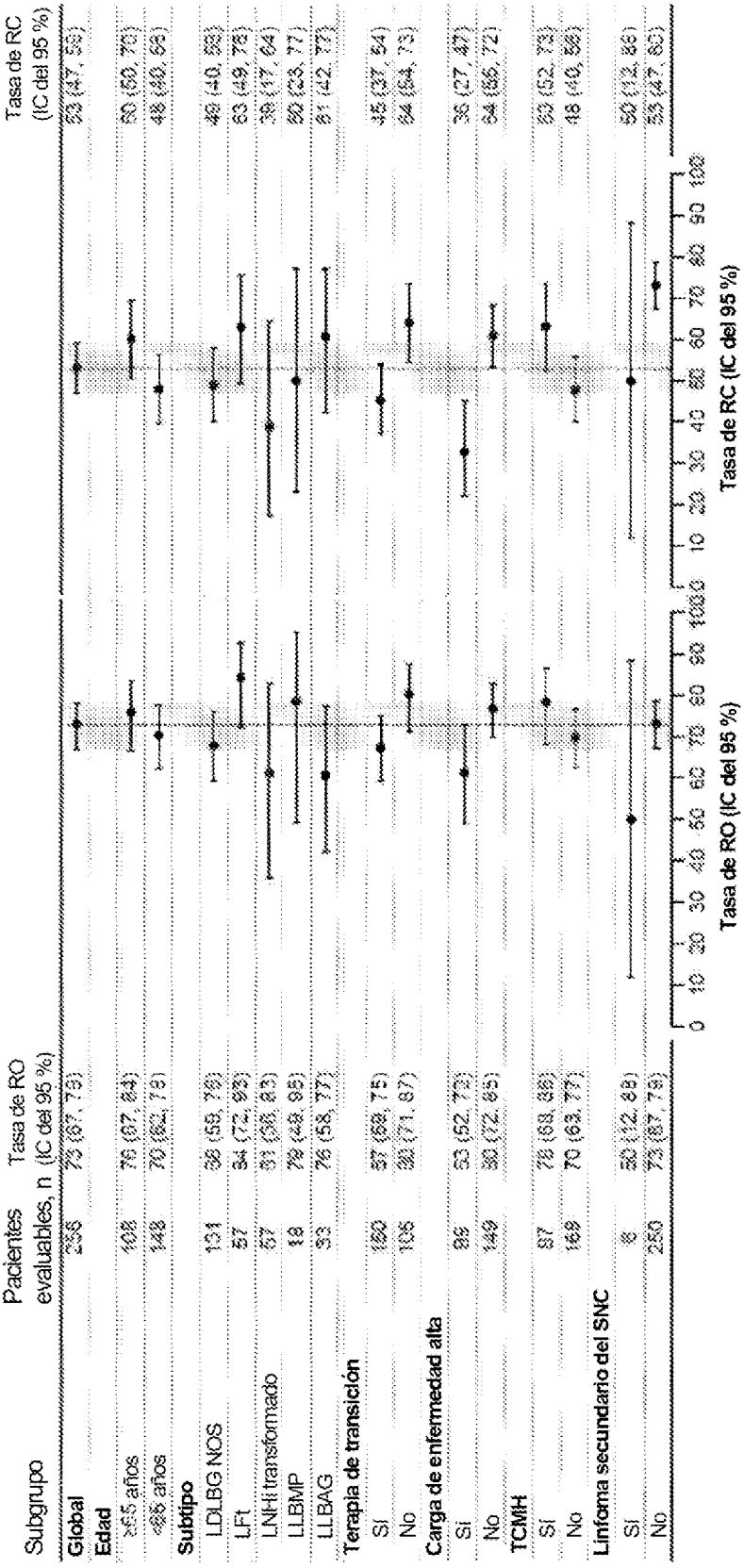

Subgrupo
Pacientes evaluables, n
Tasa de RO (IC del 95 %)
Tasa de RC (IC del 95 %)
Global 256 73 (67, 78) 63 (47, 68)
Edad
≥65 años 108 76 (67, 84) 60 (60, 76)
<65 años 148 70 (62, 78) 48 (40, 68)
Subtipo
LDLBG NOS 101 86 (58, 76) 49 (40, 68)
LFt 57 84 (72, 93) 63 (49, 78)
LNHi transformado 67 81 (68, 83) 38 (17, 64)
LLBMP 18 78 (49, 95) 60 (23, 77)
LLBAG 93 76 (58, 77) 61 (42, 77)
Terapia de transición
SI 150 87 (69, 75) 45 (37, 54)
No 106 80 (71, 87) 64 (54, 73)
Carga de enfermedad alta
SI 86 53 (52, 73) 36 (27, 47)
No 149 80 (72, 85) 64 (55, 72)
TCMH
SI 87 78 (69, 86) 63 (52, 73)
No 169 70 (63, 77) 48 (40, 56)
Linfoma secundario del SNC
SI 6 30 (12, 88) 50 (12, 88)
No 250 73 (67, 78) 63 (47, 60)
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100.0
Tasa de RO (IC del 95 %)
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100
Tasa de RC (IC del 95 %)

FIG. 60

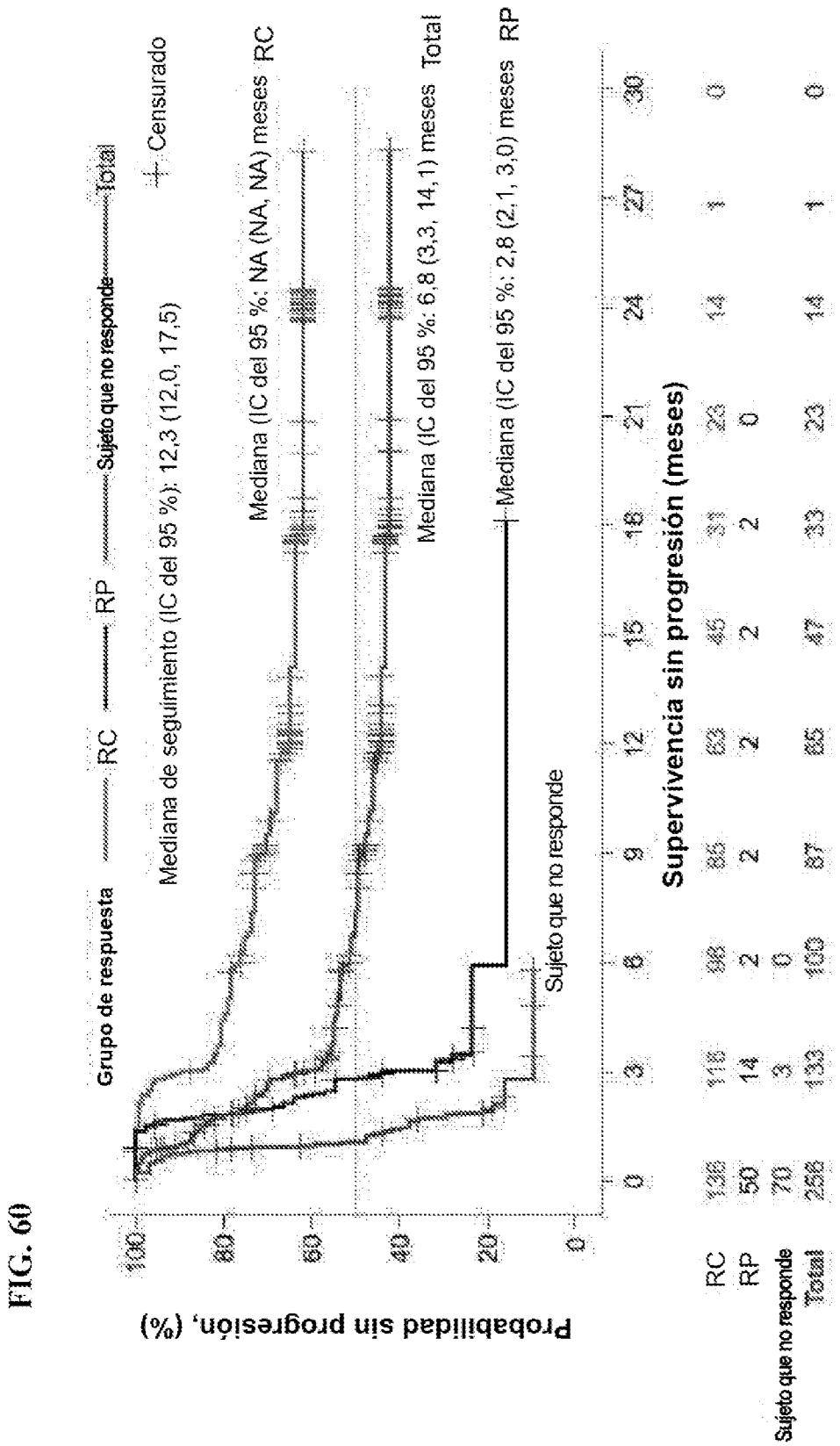

Grupo de respuesta
RC
RP
Sujeto que no responde
Total
Censurado
Mediana de seguimiento (IC del 95 %): 12,3 (12,0, 17,5)
Mediana (IC del 95 %: NA (NA, NA) meses RC
Mediana (IC del 95 %: 6,8 (3,3, 14,1) meses Total
Mediana (IC del 95 %: 2,8 (2,1, 3,0) meses RP
Sujeto que no responde
Probabilidad sin progresión, (%)
100
80
60
40
20
0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Supervivencia sin progresión (meses)
RC 136 118 98 85 63 45 31 23 14 1 0
RP 50 14 2 2 2 2 2 0
Sujeto que no responde 70 3 0
Total 256 133 100 87 65 47 33 23 14 1 0

FIG. 61

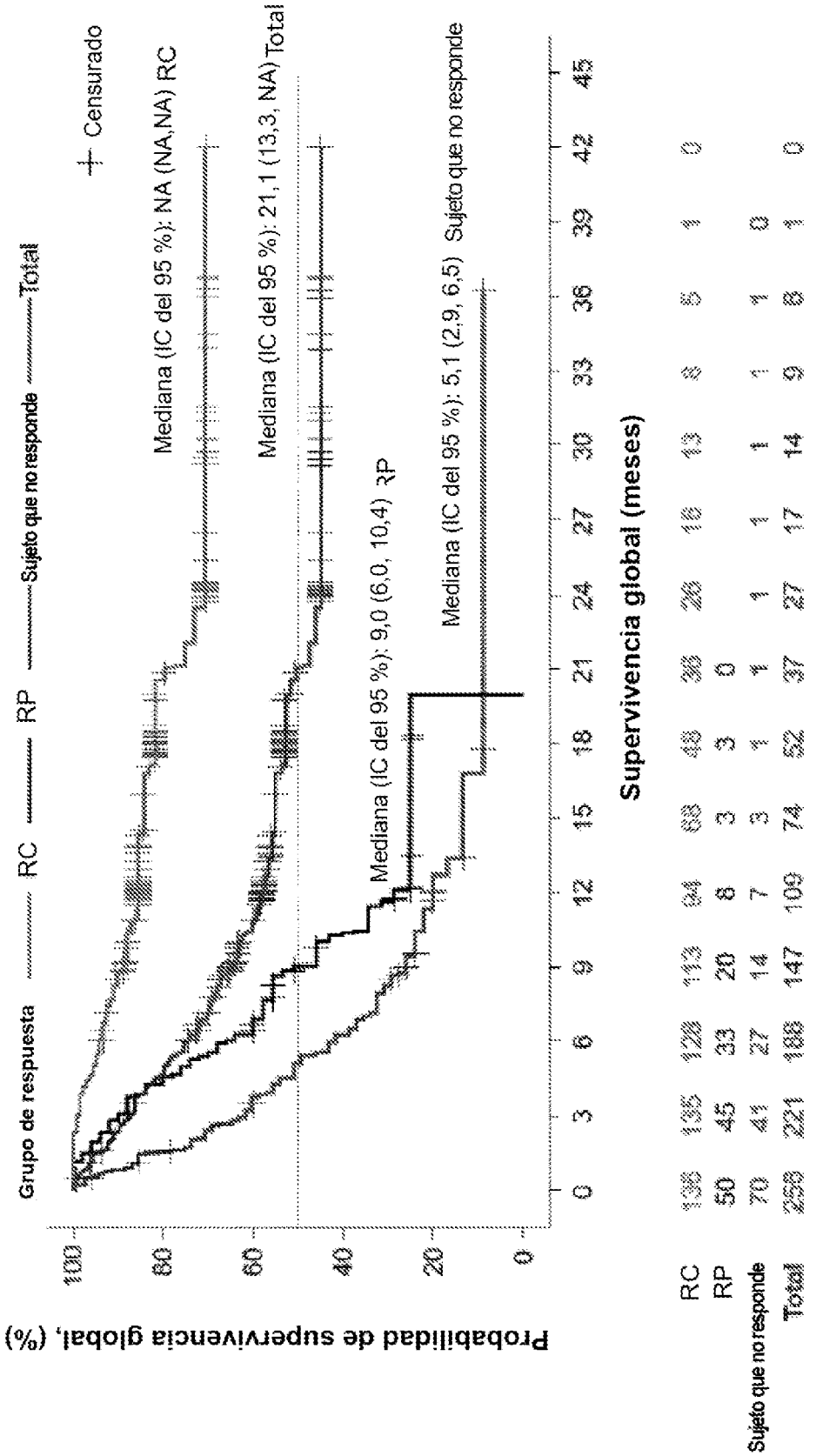

Grupo de respuesta
RC
RP
Sujeto que no responde
Total
Censurado
Mediana (IC del 95 %): NA (NA,NA) RC
Mediana (IC del 95 %): 21,1 (13,3, NA) Total
Mediana (IC del 95 %): 9,0 (6,0, 10,4) RP
Mediana (IC del 95 %): 5,1 (2,9, 6,5) Sujeto que no responde
Probabilidad de supervivencia global, (%)
100
80
60
40
20
0
Supervivencia global (meses)
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30 33 36 39 42 45
RC 135 135 128 113 84 68 48 36 26 16 13 8 5 1 0
RP 50 45 33 20 8 3 3 0
Sujeto que no responde 70 41 27 14 7 3 1 1 1 1 1 1 1 0
Total 256 221 188 147 109 74 52 37 27 17 14 9 8 1 0

FIG. 62

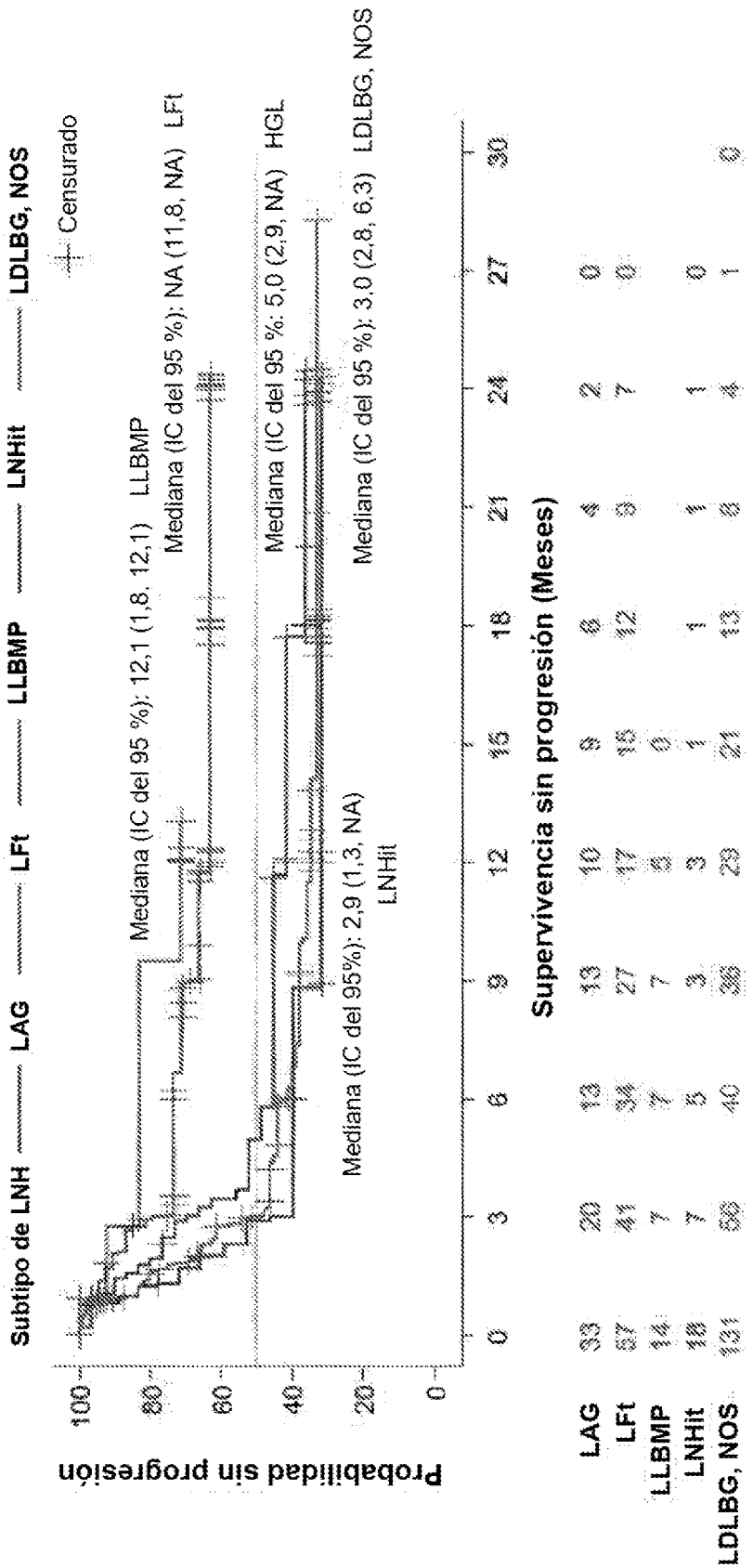

Subtipo de LNH
LAG
LFt
LLBMP
LNHit
LDLBG, NOS
Censurado
Mediana (IC del 95 %): 12,1 (1,8, 12,1) LLBMP
Mediana (IC del 95 %): NA (11,8, NA) LFt
Mediana (IC del 95 %: 5,0 (2,9, NA) HGL
Mediana (IC del 95%): 2,9 (1,3, NA) LNHit
Mediana (IC del 95 %): 3,0 (2,8, 6,3) LDLBG, NOS
Probabilidad sin progresión
100
80
60
40
20
0
0 3 6 9 12 15 18 21 24 27 30
Supervivencia sin progresión (Meses)
LAG 93 20 13 13 10 8 6 4 2 0
LFt 67 41 34 27 17 15 12 9 7 0
LLBMP 14 7 7 7 5 0
LNHit 18 7 5 3 3 1 1 1 1 0
LDLBG, NOS 131 66 40 38 29 21 13 8 4 1 0

FIG. 63

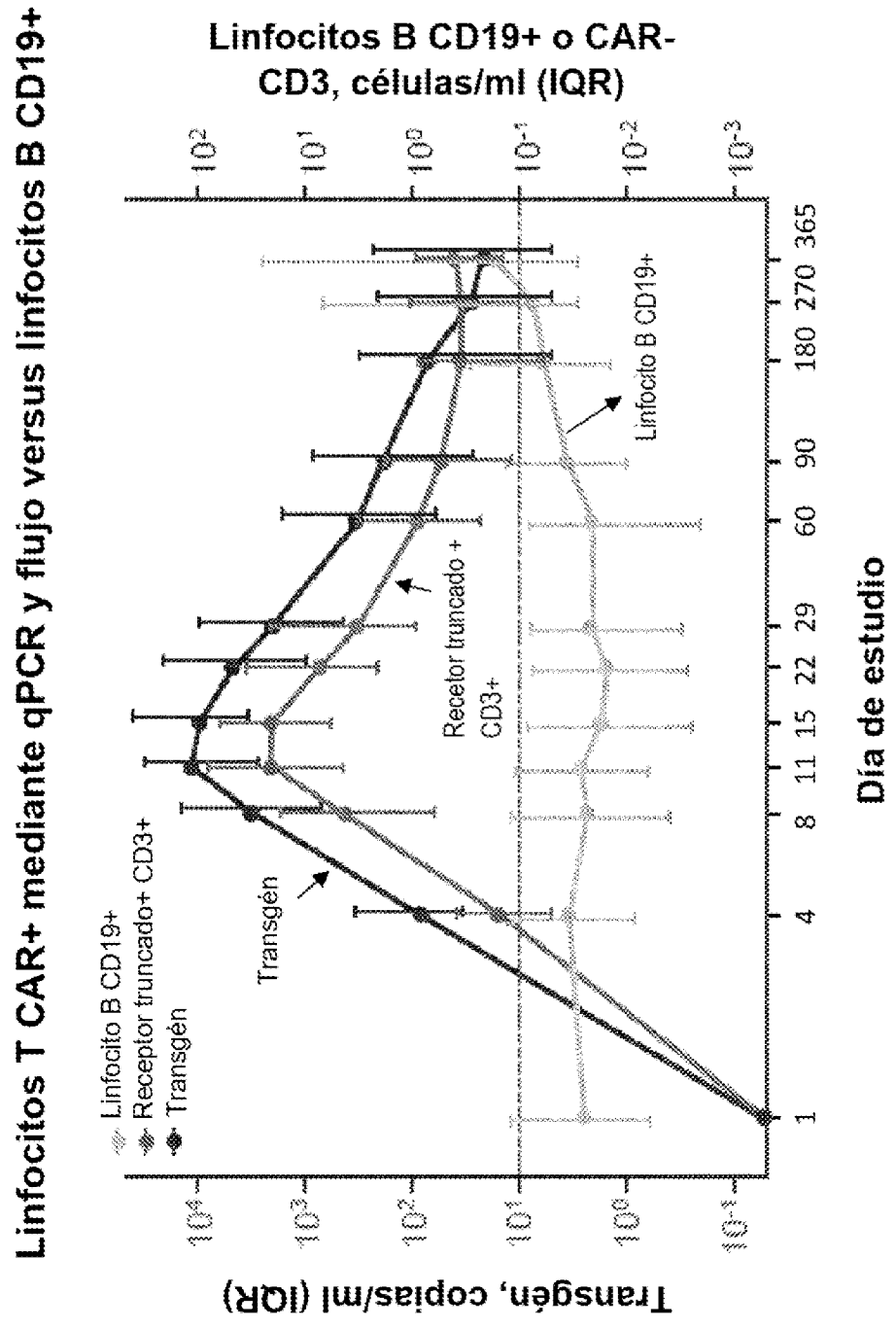
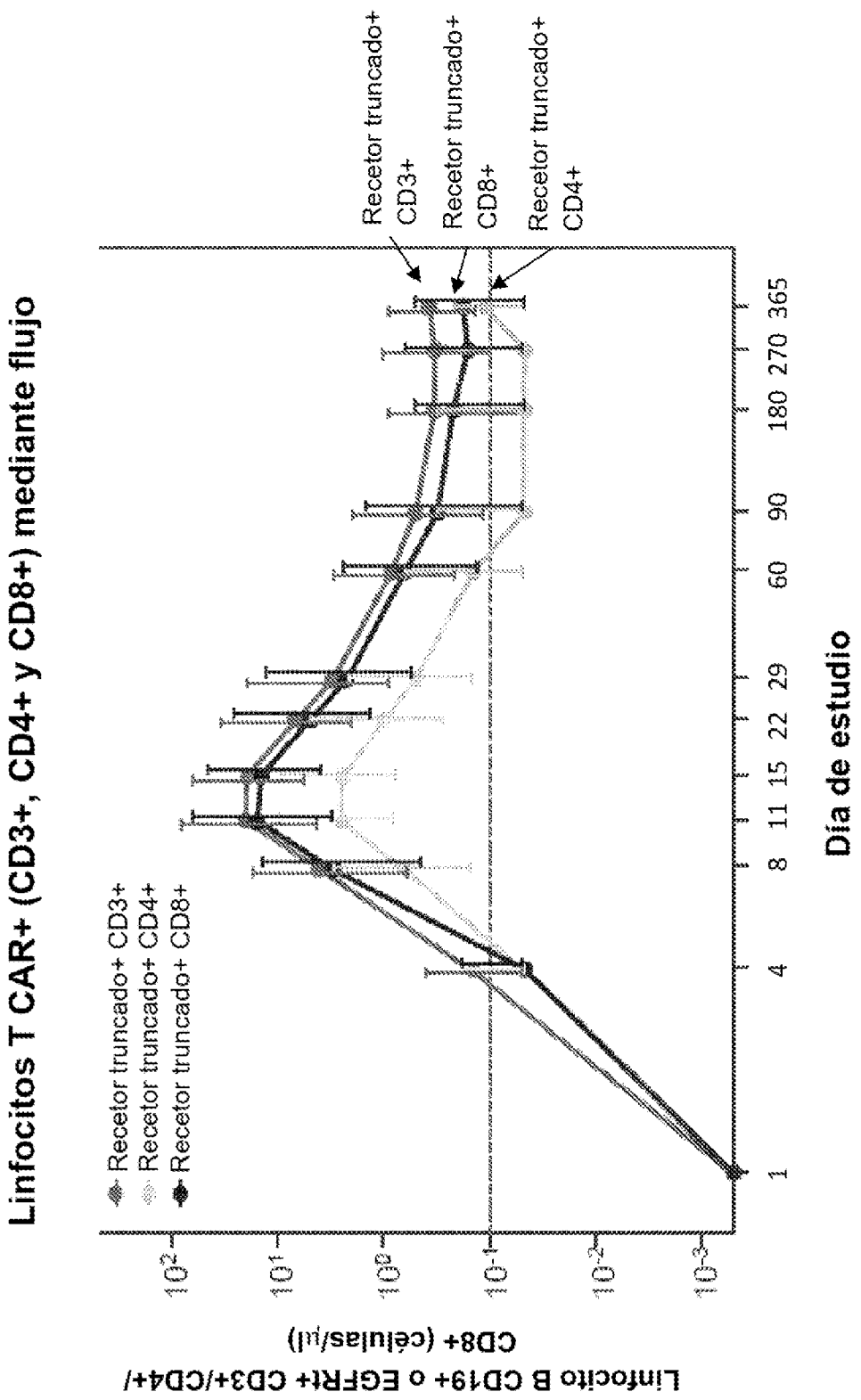

Linfocitos T CAR+ mediante qPCR y flujo versus linfocitos B CD19+
Linfocitos B CD19+ o CAR-CD3, células/ml (IQR)
Transgén, copias/ml (IQR)
Día de estudio
Linfocito B CD19+
Receptor truncado+ CD3+
Transgén
Transgén
Receptor truncado + CD3+
Linfocito B CD19+
1
4
8
11
15
22
29
60
90
180
270
365

FIG. 64


Linfocitos T CAR+ (CD3+, CD4+ y CD8+) mediante flujo
Recetor truncado+ CD3+
Recetor truncado+ CD4+
Recetor truncado+ CD8+
Recetor truncado+ CD3+
Recetor truncado+ CD8+
Recetor truncado+ CD4+
Linfocito B CD19+ o EGFRt+ CD3+/CD4+/ CD8+ (células/µl)
Día de estudio
1
4
8
11
15
22
29
60
90
180
270
365