

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 961 565**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2015** **E 18213926 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2023** **EP 3531133**

54 Título: **Estratificación del riesgo de pacientes con leucemia linfoblástica aguda de precursores B**

30 Prioridad:

30.05.2014 US 201462005560 P

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

12.03.2024

73 Titular/es:

AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH (50.0%)
Staffelseestrasse 2
81477 München, DE y
AMGEN INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

ZUGMAIER, GERHARD;
KUFER, PETER y
ALEKAR, SHILPA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

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

ES 2 961 565 T3

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

DESCRIPCIÓN

Estratificación del riesgo de pacientes con leucemia linfoblástica aguda de precursores B

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 para su uso en un procedimiento para tratar la leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B pediátrica en un sujeto tal como se define en las reivindicaciones.

10 A lo largo del texto de la presente memoria descriptiva se citan varios documentos. Nada en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la invención no está facultada para anteceder a dicha divulgación en virtud de la invención anterior.

15 **Antecedentes de la invención**

Las terapias contra el cáncer basadas en anticuerpos requieren un antígeno diana firmemente unido a la superficie de las células cancerosas para ser activas. Al unirse a la diana de la superficie, el anticuerpo puede directamente enviar una señal mortal a la célula cancerosa o indirectamente, por ejemplo, reclutando una célula T citotóxica, si es un anticuerpo biespecífico. En un escenario de tratamiento ideal, un antígeno diana está presente en abundancia y es accesible en todas las células cancerosas y está ausente, protegido o es mucho menos abundante en las células normales. Como alternativa, un antígeno diana puede estar restringido a un determinado linaje de células normales y células cancerosas derivadas del mismo, en las que el agotamiento de las células normales positivas al antígeno diana es tolerable, por ejemplo debido a su recuperación a partir de células madre negativas al antígeno diana. Estas situaciones proporcionan la base para una ventana terapéutica en la que una cantidad definida del producto terapéutico basado en anticuerpos afecta eficazmente a las células cancerosas pero evita las células normales.

Aunque los anticuerpos son un medio eficaz para tratar muchos trastornos, en particular el cáncer, su administración no está necesariamente exenta de efectos secundarios. Los efectos adversos pueden causar un cambio reversible o irreversible en el estado de salud de un paciente. Dado que los efectos adversos pueden ser dañinos y no deseados, es altamente deseable evitarlos. Sin embargo, aunque se sabe que un medicamento puede causar efectos adversos, no se puede evitar, o se acepta, su prescripción y administración, debido a que el medicamento tiene un efecto terapéutico beneficioso excepcional o incluso puede salvar vidas.

35 En los ensayos clínicos, se puede hacer una distinción general entre efectos adversos (EA) y efectos adversos graves (EAG). Específicamente, los efectos adversos se pueden clasificar en 5 grados de acuerdo con los Criterios Comunes de Terminología para Eventos Adversos (CTCAE) versión 4. El grado 1 se refiere a un EA leve, el grado 2 a un EA moderado, el grado 3 a un EA grave, el grado 4 a un EA potencialmente mortal o incapacitante, mientras que el grado 5 significa muerte relacionada con un EA.

40 Un efecto adverso que se observa en la terapia con anticuerpos es la aparición de efectos secundarios relacionados con la infusión, tales como el síndrome de liberación de citoquinas ("SLC"). Otros efectos secundarios adversos que se describen como asociados con el SLC son fatiga, vómitos, taquicardia, hipertensión, dolor de espalda, pero también reacciones neurológicas del sistema nervioso central (reacciones del SNC), tales como convulsiones, encefalopatía, edema cerebral, meningitis aséptica y cefalea.

La liberación de citoquinas y las reacciones neurológicas no solo se han observado con anticuerpos monoclonales que se unen al receptor de células T, sino también con un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 que se une a la parte CD3 del receptor de células T (denominado blinatumomab (MT103) o AMG 103).

50 El blinatumomab es un anticuerpo CD19xCD3 recombinante biespecífico monocatenario, dirigido a tumores malignos de células B, que se une a CD19 en la superficie de casi todas las células B y células B tumorales, y de forma concomitante puede captar una célula T, provocando así que la célula T destruya la célula B o célula B tumoral diana. El blinatumomab consiste en cuatro dominios variables de inmunoglobulina ensamblados en una única cadena polipeptídica. Dos de los dominios variables forman el sitio de unión para CD19, un antígeno de superficie celular expresado en la mayor parte de las células B y células B tumorales. Los otros dos dominios variables forman el sitio de unión para el complejo CD3 en las células T. El blinatumomab está diseñado para dirigir las células T citotóxicas, o destructoras de células, del organismo contra las células tumorales, y representa un nuevo enfoque terapéutico para la terapia contra el cáncer. El blinatumomab se encuentra actualmente en ensayos clínicos. "BACKGROUND INFORMATION FOR THE PEDIATRIC SUBCOMMITTEE OF THE ONCOLOGIC DRUGS ADVISORY COMMITTEE MEETING", 4 de diciembre de 2012, XP055203294, divulga el uso de blinatumomab para el tratamiento de la LLA recidivante/refractaria adulta y pediátrica. Gesche Tallen et al. (2010), Journal of Clinical Oncology 28, N° 14, 2339-2347, describe el resultado a largo plazo en niños con leucemia linfoblástica aguda recidivante después de la estratificación del punto temporal y del lugar de la recaída y de una quimioterapia multifármaco intensificada de corta duración. Dirk Nagorsen et al. (2012), Pharmacology & Therapeutics 136, 334-342, describe el uso de blinatumomab para el tratamiento del linfoma no de Hodgkin y la leucemia linfoblástica aguda.

Tal como se describe, por ejemplo, en el documento WO 99/54440, se han observado efectos adversos en un estudio anterior realizado con blinatumomab aplicado en infusiones en embolada repetidas a un paciente con leucemia linfática crónica derivada de células B (LLC-B). Para intentar gestionar mejor estos efectos secundarios no deseados, se cambió el modo de administración del anticuerpo biespecífico de monocatenario CD19xCD3, ya que se cambió de infusión en embolada a una administración intravenosa continua de dicho anticuerpo durante un periodo de tiempo más prolongado. Si bien los medios y procedimientos farmacéuticos que permiten una activación más gradual de las poblaciones de células T (véase el documento WO 2007/068354) ya ayudaron a evitar efectos secundarios adversos significativos en pacientes tratados con el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3, desafortunadamente las reacciones neurológicas no se pueden prevenir con estas medidas, en particular, en los casos en que se hayan administrado dosis de más de 5 a 10 microgramos por metro cuadrado por día (es decir, 24 h) del anticuerpo. El documento

WO 2011/051307 describe que aquellos pacientes a los que se les administró un anticuerpo biespecífico CD19xCD3 se encontraron con eventos en el SNC si tenían una relación de células B : T de aproximadamente 1:5 o inferior. En consecuencia, el documento WO 2011/051307 proporciona regímenes de dosificación adecuados para reducir los posibles eventos del SNC. El documento WO 2012/146394 estableció que un recuento total de células B de menos de aproximadamente 50 células B por microlitro de sangre periférica es un indicador del riesgo de posibles eventos adversos neurológicos y, por lo tanto, proporciona regímenes de dosificación adecuados que ayudan a reducir o incluso a evitar dichos eventos adversos.

Sin embargo, aunque una relación baja de células B: T y/o un número bajo de células B totales en sangre periférica se ha establecido como un perfil de riesgo asociado con un mayor riesgo de eventos adversos relacionados con el SNC cuando los sujetos se tratan con un dominio de unión a CD3 tal como un anticuerpo biespecífico monocatenario CD19 x CD3, por ejemplo, blinatumomab, en la lucha contra linfoma o leucemia, dicho perfil de riesgo aún no ha resultado ser no variable cuando se trata a sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA). Sin embargo, "no variable" no significa que el perfil de riesgo hasta ahora establecido que se describe en el documento WO 2011/051307 o el documento WO 2012/146394 para los sujetos que padecen linfoma no es aplicable a los sujetos que padecen LLA, de hecho, es aplicable, pero en ensayos clínicos resultó que este perfil de riesgo se puede mejorar para excluir incluso un posible evento adverso, en particular, una reacción neurológica adversa. J.H. Visser et al. (2001), *Hematology and Oncology* 18, 187-191, describe el valor pronóstico del porcentaje de blastos el día 14 y el índice absoluto de blastos en la médula ósea de niños con leucemia linfoblástica aguda. Jan Sary et al., 18 de septiembre de 2011, Results of the Randomized I-BFM-SG Trial "Acute Lymphoblastic Leukemia Intercontinental-BFM 2002" en 5060 niños diagnosticados en 15 países de 3 continentes, divulga un ensayo que evaluó de manera aleatoria el efecto sobre el resultado de la reinducción tardía intensificada en el contexto de una estratificación de riesgo recientemente desarrollada en niños con LLA. Giuseppe Basso et al. (2009), *Journal of Clinical Oncology* N° 31, Vol 27, 5168-5174, divulga que el riesgo de recaída de la LLA infantil se predice mediante la medición de la enfermedad residual por citometría de flujo el día 15 en la médula ósea.

Por lo tanto, el problema técnico subyacente a la presente invención es proporcionar medios y procedimientos para tratar sujetos que padecen LLA con un dominio de unión a CD3 reduciendo o incluso evitando a la vez el riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

La presente invención aborda esta necesidad y, por lo tanto, proporciona una terapia, terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, en la que dicha terapia es un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3, para su uso en un procedimiento para tratar la leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B en un sujeto tal como se define en las reivindicaciones.

También se divulga

el uso de una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa,

el uso de una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa,

el uso de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene

- LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa, el uso del número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene

- LLA de precursores para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa, un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B que comprende determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto, y

un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que padece LLA de precursores B que comprende determinar el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto.

5 Los aspectos y formas de realización se caracterizan y se describen en el presente documento y se reflejan en las reivindicaciones.

10 **Sumario de la invención**

La presente invención proporciona un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 para su uso en un procedimiento para tratar LLA de precursores B pediátrica en un sujeto, en el que dicho sujeto es un sujeto que tiene una cantidad del 20% o superior de células blásticas por cada 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto.

15 En una forma de realización preferida, el anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 comprende las

(a) CDR anti-CD3 de la cadena pesada mostrada como CD3 CDR-H1 en la SEQ ID NO: 11 (RYTMH), de forma más preferida en la SEQ ID NO: 11 (GYTFTRYTMH), CD3 CDR-H2 en la SEQ ID NO: 12 (YINPSRGYTNYNQKFKD) y CD3 CDR-H3 en la SEQ ID NO: 13 (YYDDHYCLDY); y/o

(b) CDR anti-CD3 de la cadena ligera mostrada como CD3 CDR-L1 en la SEQ ID NO: 14 (RASSSVSYMN), CD3 CDR-L2 en la SEQ ID NO: 15 (DTSKVAS) y CD3 CDR-L3 en la SEQ ID NO: 16 (QQWSSNPLT); y/o

(c) CDR anti-CD19 de la cadena pesada mostrada como CD19 CDR-H1 en la SEQ ID NO: 17 (SYWMN), de forma más preferida en la SEQ ID NO: 17 (GYAFSSYWMN), CD19 CDR-H2 en la SEQ ID NO: 18 (QIWPGDGDNTYNGKFKG) y CD19 CDR-H3 en la SEQ ID NO: 19 (RETTTVGRYYYYAMDY); y/o

(d) CDR anti-CD19 de la cadena ligera mostrada como CD19 CDR-L1 en la SEQ ID NO: 20 (KASQSVDYDGDSYLN), CD19 CDR-L2 en la SEQ ID NO: 21 (DASNLVS) y CD19 CDR-L3 en la SEQ ID NO: 22 (QQSTEDPWT).

El anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 preferido es blinatumomab (AMG 103).

35 En una forma de realización, el sujeto es un ser humano.

Descripción detallada de la invención

Los autores de la presente invención observaron que la presencia de células diana, que se combaten mediante una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, en la que las células T pueden redireccionarse, por ejemplo, mediante un dominio de unión a CD3 o mediante un receptor de antígeno quimérico (CAR), en el sistema nervioso central (SNC), así como la falta de células B periféricas, podría dar lugar a una reacción neurológica adversa en un sujeto que padece LLA de precursores B y que se trata mediante dicha terapia. Es decir, sin vincularse a ninguna teoría, una terapia que incluya el redireccionamiento de células T contra células diana de leucemia linfoblástica podría dar lugar a posibles reacciones neurológicas adversas, dado que las células T redireccionadas se adhieren al endotelio de los vasos sanguíneos, activan el endotelio, comienzan a extravasarse y migran incluso al SNC. Se supone que las células endoteliales activadas atraen a otros leucocitos de la sangre periférica, por ejemplo monocitos, que a su vez pueden causar neuroinflamación transitoria y alteración de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo. Se asume que la alteración de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo provocada por estrés endotelial debido a la adhesión de las células T redireccionadas y la activación de las células endoteliales provoca una fuga en la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo (LCR) y, por lo tanto, permite la difusión y la migración de las células efectoras, por ejemplo, las células T comprometidas por un dominio de unión a CD3 o las células T modificadas por CAR (véase, por ejemplo, Grupp et al. (2013), N. Engl. J. Med. 368 (16), páginas 1509-1518) y/o la difusión de un dominio de unión a CD3 al LCR. Se sabe que los sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda tienen células leucémicas tales como células blásticas en el LCR (véase, por ejemplo, Buerger et al. (2003), Journal of Clinical Oncology 21, Nº 2, páginas 184-188. Cuando una célula T redireccionada se encuentra con una célula diana, tal como una célula blástica en el LCR y destruye la célula diana, la célula T también se activará y, por lo tanto, atraerá a más células efectoras y desencadenará, por ejemplo, la producción de citoquinas. Se asume que uno o más de estos eventos contribuyen a la neuroinflamación y/o a efectos tóxicos en las células neuronales de factores solubles, tales como las citoquinas, que podrían desembocar en el desarrollo de una reacción neurológica adversa.

En consecuencia, habiendo observado en ensayos clínicos lo anterior, los autores de la presente invención descubrieron que la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto que padece LLA de precursores B y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR de dicho sujeto son parámetros de pronóstico adecuados que deben tenerse en cuenta en el tratamiento de la LLA de precursores B.

Específicamente, los autores de la presente invención descubrieron que una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana.

Además, los autores de la presente invención descubrieron que más de 5 de células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana.

Por lo tanto, los autores de la presente invención, por así decirlo, determinaron dos factores de riesgo para sujetos que padecen LLA de precursores B (a veces también denominados "pacientes con LLA") que, idealmente, deben verificarse antes de que se les administre un dominio de unión a CD3 a dichos sujetos, la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR. Este hallazgo fue una sorpresa para los autores de la presente invención, ya que hasta el momento el factor de riesgo (falta de células B protectoras) hasta el momento solo podía establecerse de manera fiable en el tratamiento del linfoma no de Hodgkin (LNH) con una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, pero no en el tratamiento de LLA de precursores B con dicha terapia. La explicación más probable para esto puede basarse en el hecho de que la infiltración de la médula ósea por células B leucémicas desempeña un papel mucho más importante en la LLA de precursores B que en el LNH.

El hallazgo de los autores de la presente invención, por lo tanto, allana el camino para estratificar el riesgo de sujetos que padecen LLA de precursores B, en el que se pretende someter a dichos sujetos a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana en categorías de sujetos que pueden estar o no en riesgo de posibles reacciones neurológicas adversas. En particular, aunque los sujetos pueden estar en tal riesgo, la presente invención enseña qué hacer para tener un riesgo muy reducido o idealmente nulo. En consecuencia, los hallazgos de los autores de la presente invención también allanan el camino para tratar la LLA de precursores B con una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que al mismo tiempo reduce o incluso elimina el riesgo de posibles reacciones neurológicas adversas. Por lo tanto, la presente invención contribuye en gran medida a una terapia contra LLA de precursores B con una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, que idealmente está exenta de reacciones neurológicas adversas.

Para evitar cualquier duda, se subraya que la divulgación de la presente invención, incluidas todas las definiciones, etc., puede aplicarse en su totalidad a todas las formas de realización que forman parte de la presente invención (es decir, están relacionadas con la esencia de la invención y, por lo tanto, se incluyen en el contexto de la presente invención), independientemente de si estas formas de realización están redactadas como formas de realización de un procedimiento para la estratificación del riesgo de los sujetos, formas de realización de uso o procedimientos de tratamiento o formas de realización de uso o procedimiento, etc. Por lo tanto, todas las definiciones y formas de realización pueden usarse y aplicarse a todas las formas de realización divulgadas en el presente documento.

Definiciones

Cabe señalar que tal como se utilizan en el presente documento, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referencias en plural y viceversa, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, una referencia a "una célula huésped" o a "un procedimiento" incluye una o más de estas células huésped o procedimientos, respectivamente, y una referencia a "el procedimiento" incluye etapas equivalentes y procedimientos que podrían modificarse o sustituirse de una forma conocida por los expertos en la técnica. Del mismo modo, por ejemplo, una referencia a "procedimientos" o "células huésped" incluye "una célula huésped" o "un procedimiento", respectivamente.

A menos que se indique lo contrario, la expresión "al menos" que precede a una serie de elementos debe entenderse que se refiere a cada uno de los elementos de la serie. Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar, utilizando únicamente una experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las formas de realización específicas de la invención descrita en el presente documento.

El término "y/o", donde quiera que se utilice en el presente documento, incluye el significado de "y", "o" y "todas las combinaciones o cualquier otra combinación de los elementos conectados por dicho término". Por ejemplo, A, B y/o C significa A, B, C, A + B, A + C, B + C y A + B + C.

A lo largo de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones o puntos, a menos que el contexto requiera lo contrario, la palabra "comprender" y las variaciones tales como "comprende" y "que comprende" se entenderá que implican la inclusión de un número entero (o etapa) establecido o un grupo de números enteros (o etapas). No excluye ningún otro número entero (o etapa) o grupo de números enteros (o etapas). Cuando se usa en el presente documento, el término "que comprende" puede sustituirse por "que contiene", "compuesto por", "que incluye", "que tiene" o "que porta". Cuando se usa en el presente documento, "que consiste en" excluye todo número entero o etapa que no se especifique en la reivindicación. Cuando se usa en el presente documento, "que consiste esencialmente en" no excluye números enteros o etapas que no afecten sustancialmente a las características básicas y novedosas de la reivindicación. En cada caso del presente documento, se puede reemplazar cualquiera de las expresiones "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" por cualquiera de las otras dos expresiones.

La memoria descriptiva puede haber presentado el procedimiento y/o el proceso divulgado en el presente documento como una secuencia particular de etapas. Sin embargo, en la medida en que el procedimiento o proceso no se base en el orden particular de las etapas establecidas en el presente documento, el procedimiento o proceso no debe limitarse a la secuencia particular de etapas descritas. Como un experto en la técnica apreciará, pueden ser posibles otras secuencias de etapas.

Debe entenderse que la presente invención no está limitada a la metodología, protocolos, material, reactivos y sustancias particulares, etc., descritos en el presente documento. Las terminologías usadas en el presente documento tienen el propósito de describir formas de realización particulares únicamente y no pretenden limitar el alcance de la presente invención, que se define únicamente por las reivindicaciones/puntos.

Nada de lo contenido en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la invención no está facultada para la divulgación de las publicaciones y patentes citadas a lo largo del texto de la presente memoria descriptiva (incluidas todas las patentes, solicitudes de patente, publicaciones científicas, especificaciones del fabricante, instrucciones, etc.). En la medida en que el material citado contradiga o sea inconsistente con la presente memoria descriptiva, la memoria descriptiva reemplazará dicho material.

La estratificación del riesgo se basa en la determinación de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto, y/o en la determinación del número de células blásticas por 1 μ l en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) de dicho sujeto. Según la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR, la estratificación del riesgo permite clasificar a los sujetos que padecen LLA de precursores B en categorías de sujetos que pueden o no estar en riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa después de la administración de un dominio de unión a CD3. Según la categoría, dichos sujetos pueden tratarse adecuadamente, mientras que su riesgo de una posible reacción neurológica adversa puede reducirse o incluso excluirse. En el presente documento se divulga un procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B, pretendiéndose para dichos sujetos una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, que comprende

(a) determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; y/o
determinar el número de células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto,

(b) estratificar el riesgo de dicho sujeto en una de las siguientes categorías:

(i) sujetos que tienen una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;

(ii) sujetos que tienen 5 células blásticas o menos por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;

(iii) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, teniendo simultáneamente dichos sujetos 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;

(iv) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;

(v) sujetos que tienen más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos; o

(vi) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, teniendo simultáneamente dichos sujetos más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos.

- Los términos "estratificar el riesgo" y "estratificación del riesgo", tal como se utilizan en el presente documento, significan que los sujetos se identifican en base a pruebas moleculares, bioquímicas, anatómicas y/o histológicas y, por lo tanto, se asignan a, o se clasifican en, categorías de sujetos con el objetivo de seleccionar la gestión óptima para los sujetos y lograr el mejor resultado posible en términos de gestión del riesgo y el logro del resultado óptimo del tratamiento, en este caso, en particular el tratamiento de LLA de precursores B en un escenario ideal sin riesgo de posibles reacciones neurológicas adversas. La clasificación depende de la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de LCR de un sujeto individual y/o depende del número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto individual. La cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR indica si un sujeto puede tener un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa o un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa. En consecuencia, una determinada categoría a la que se asigna un sujeto refleja, por así decirlo, la probabilidad del riesgo de experimentar una reacción neurológica adversa cuando se trata a un sujeto con una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra las células diana.
- El procedimiento para estratificar el riesgo de los sujetos permite, por tanto, la predicción (del riesgo) de si un sujeto desarrollará o no una posible reacción neurológica adversa. De manera similar, el procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos permite mitigar una posible reacción neurológica adversa.
- Un valor de porcentaje de "corte" para la cantidad de células blásticas por 200 células blásticas contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto es aproximadamente el 20%. Menos del 20% de células blásticas en dicha muestra de médula ósea es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que al menos el 20% de células blásticas en dicha muestra de médula ósea es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana.
- El término "alrededor de" o "aproximadamente", tal como se utiliza en el presente documento, en el contexto del valor porcentual de las células blásticas en una muestra de médula ósea significa dentro de un intervalo del 10%, preferentemente dentro de un intervalo del 5%, y de forma más preferida dentro de un intervalo del 5% a partir del valor porcentual dado. Incluye también el número concreto, por ejemplo, aproximadamente 20 incluye 20.
- El término "o menos" o "menos que", o el término "o más" o "más que" incluye el número concreto. Por ejemplo, menos de 20 significa ≤ 20 y más de 20 significa ≥ 20 .
- Un valor de "corte" para el número de células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de un sujeto es aproximadamente 5. Más de 5 de células blásticas en dicha muestra de LCR es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que 5 o menos células blásticas en dicha muestra de LCR es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana.
- El término "alrededor de" o "aproximadamente", tal como se utiliza en el presente documento, en el contexto del valor de las células blásticas en una muestra de LCR significa dentro de un intervalo del 60%, preferentemente dentro de un intervalo del 40%, y de forma más preferida dentro de un intervalo del 20% a partir del valor dado. Incluye también el número concreto, por ejemplo, aproximadamente 5 incluye 5.
- El término "o menos" o "menos que", o el término "o más" o "más que" incluye el número concreto. Por ejemplo, menos de 5 significa ≤ 5 y más de 5 significa ≥ 5 .
- "Leucemia linfoblástica aguda", abreviada "LLA", cuando se utiliza en el presente documento abarca la LLA de precursores B o, como también se denomina, LLA de precursores de células B (ambos términos también están incluidos en la abreviatura LLA) así como LAA pediátrica o infantil, así como LLA en adultos, es decir, LLA adulta. La LLA de precursores B es el tipo más común de LLA. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una forma de leucemia o cáncer de los glóbulos blancos que se caracteriza por un exceso de linfoblastos. La LLA se caracteriza, entre otras cosas, por la multiplicación continua de glóbulos blancos inmaduros y malignos que se producen en exceso en la médula ósea. La LLA causa daño y muerte al desplazar a las células normales de la médula ósea y al diseminarse (infiltrarse) a otros órganos. La LLA es más común en la infancia, con una incidencia máxima entre los 2 y los 5 años de edad y otra incidencia máxima en la vejez. "Aguda" se refiere al curso de tiempo relativamente corto de la enfermedad (siendo mortal en tan solo unas pocas semanas si no se trata) para diferenciarlo de la enfermedad muy diferente leucemia linfocítica crónica, que tiene un curso de tiempo potencial de muchos años. Se denomina indistintamente linfocítica o linfoblástica. Esto se refiere a las células que están involucradas, que si fueran normales se denominarían linfocitos pero se ven en esta enfermedad en un estado relativamente inmaduro (también denominado "blástico"). Cuando se hace referencia en el presente documento a LLA, esta comprende preferentemente linfocitos malignos positivos para CD19. La LLA de precursores B es, en el contexto de la presente invención, la LLA de precursores B pediátrica.

"Maligno" describe linfocitos (en particular células B) que contribuyen a un empeoramiento progresivo de la enfermedad, en particular, linfoma o leucemia y las enfermedades descritas en el presente documento. Los linfocitos malignos positivos para CD19 (en particular las células B) no están autolimitados en su crecimiento, son capaces de invadir los tejidos adyacentes y pueden propagarse a tejidos distantes (metástasis). Maligno, cuando se usa en el presente documento, es sinónimo de canceroso. El documento WO 2010/052013 proporciona medios y procedimientos para tratar la LLA pediátrica o infantil, en particular la LLA pediátrica refractaria y/o recidivante.

Cuando se usa en el presente documento, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) pediátrica o infantil incluye la LLA de linaje B pediátrica, preferentemente la leucemia linfoblástica aguda LLA de precursores B pediátrica, de forma más preferida la LLA pro-B pediátrica, la LLA pre-B o la LLA común (LLAc). De forma aún más preferida, la LLA de precursores B pediátrica es la LLA común (LLAc). La leucemia linfoblástica aguda (LLA) pediátrica o infantil también incluye la enfermedad mínima residual (EMR) en un paciente pediátrico con leucemia linfoblástica aguda (LLA).

El término "LLA pediátrica refractaria", tal como se utiliza en el presente documento, significa resistencia de la LLA pediátrica a la terapia contra la LLA pediátrica convencional o estándar, tal como quimioterapia y/o TCMH. Actualmente, la tasa de recaída en la LLA pediátrica se encuentra en aproximadamente el 25%. Dicho en otras palabras: La terapia convencional o estándar contra la LLA pediátrica no es capaz de curar en último término a todos los pacientes pediátricos.

El término "LLA pediátrica recidivante", tal como se utiliza en el presente documento, denota el retorno de los signos y síntomas de la enfermedad de LLA después de que un paciente pediátrico haya tenido una remisión. Por ejemplo, después de un tratamiento convencional de LLA con quimioterapia y/o TCMH, un paciente pediátrico con LLA puede entrar en remisión sin signos ni síntomas de la LLA, permanece en remisión durante un par de años, pero después padece una recaída y debe recibir nuevamente tratamiento contra la LLA.

El término "enfermedad mínima residual (EMR)" tal como se define en el presente documento denota un término usado después del tratamiento, por ejemplo, con productos quimioterapéuticos cuando no se pueden encontrar células leucémicas en la médula ósea mediante ensayos estándar, tales como procedimientos microscópicos. Más bien, se deben usar ensayos más sensibles, tales como citometría de flujo (procedimientos basados en FACS) o reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para encontrar pruebas de que las células de leucemia permanecen en la médula ósea del paciente pediátrico con LLA. Más específicamente, la presencia de células leucémicas por debajo del límite de detección citológica (5% de células leucémicas) se define como enfermedad mínima residual (EMR). Si no se detecta EMR ($< 10^{-4}$, es decir, menos de 1 célula leucémica por 10^4 células de médula ósea detectables), se alcanza una remisión molecular completa (negatividad de EMR o estado EMR negativo). Un "estado EMR positivo", tal como se define en el presente documento, significa una señal medida por PCR o FACS por encima del límite de detección o de un umbral cuantitativo. Un "estado EMR negativo", tal como se define en el presente documento, significa una señal por debajo del límite de detección y/o por debajo de un umbral cuantitativo medido por PCR o FACS. El valor pronóstico de la cuantificación de la enfermedad mínima residual en la LLA infantil se ha descrito, por ejemplo, por Bader et al. (J. Clin. Oncol. 27 (2009): 377-384) o Eckert et al. (Lancet 358 (2001): 1239-41). El estado de la EMR se puede medir mediante análisis por PCR o por FACS en el sentido de que las anomalías citogenéticas individuales mencionadas en el presente documento y/o los reordenamientos de genes de inmunoglobulina o los reordenamientos del receptor de células T (TCR) se detectan cuantitativamente. Por ejemplo, el análisis por PCR puede detectar transcripciones de fusión como bcr/abl o translocaciones t(4; 11), así como reordenamientos clonales individuales de inmunoglobulinas (IgH) y/o genes de receptores de células T (TCR). El documento

WO 2010/052014 proporciona medios y procedimientos para tratar la LAA adulta. La "LLA adulta" incluye la leucemia linfoblástica aguda de linaje, preferentemente la leucemia linfoblástica aguda de precursores B, la LLA que es refractaria a la quimioterapia en sujetos no elegibles para trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas, así como la enfermedad mínima residual (EMR) en un sujeto con leucemia linfoblástica aguda (LLA).

Una "terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana" debe entenderse como una terapia, tal como un medicamento, que se caracteriza por la aparición y/o existencia de "células T redireccionadas", es decir, la terapia comprende o consiste en células T redireccionadas como tales, por ejemplo, células T genéticamente modificadas que tienen un receptor de antígeno quimérico CAR (formulado opcionalmente como una composición farmacéutica) y/o las células T redireccionadas aparecen en el curso de la terapia ejemplificada por un medicamento que comprende un dominio de unión específico para CD3 tal como se define en el presente documento, preferentemente un dominio de unión específico para CD3 junto con un dominio de unión que es específico para células B, de forma más preferida un dominio de unión específico para CD3 junto con un dominio de unión que es específico para un marcador de CD que se puede encontrar en el linfoma de células B tal como CD19, CD22, CD20 o CD79a, prefiriéndose CD19. En el contexto de la presente invención, dicha terapia que comprende redireccionar las células T contra células diana es una terapia con un anticuerpo monocatenario biespecífico CD3XCD19 y en una forma de realización de máxima preferencia dicha terapia que comprende la redirección de células T contra células diana es una terapia con blinatumomab. Por lo tanto, en una forma de realización particularmente preferida, dichas células T redireccionadas son células T humanas que se han puesto en contacto con (están unidas por) blinatumomab (AMG 103).

También se prevé que dicha terapia con blinatumomab es para la administración de 5 a 10 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ o dosis más altas, tales como 15, 45 o 60 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$. Los dominios de unión específicos para CD-3 mencionados anteriormente se explican muy detalladamente en otra parte en el presente documento.

5 Los receptores de antígeno quimérico (CAR) son proteínas de fusión que comprenden restos de reconocimiento de antígeno y dominios de activación de células T. Por lo general, se extraen las células T de un paciente, se someten a ingeniería celular del receptor del antígeno quimérico (CAR) y después se infunden como células T modificadas por ingeniería genética en el paciente. La modificación por ingeniería genética, que se realiza en aproximadamente 10 días, cambia la célula T de dos maneras. En primer lugar, se añade un receptor que se dirige al antígeno que se encuentra en la mayor parte de las células leucémicas; cuando las células se insertan de nuevo en el cuerpo del paciente, localizan este antígeno, se adhieren y destruyen la célula leucémica. En segundo lugar, el proceso inserta un mecanismo de vector vírico en las células que, una vez que las células se han adherido a la leucemia, desencadenan la expansión y la proliferación de estas células T, de modo que buscan y destruyen todas las células leucémicas restantes.

15 Para el tratamiento de enfermedades malignas de células B, se han descrito los CAR de CD19 que consisten en un dominio de unión específica a CD19 vinculado, por ejemplo, a CD3zeta, en estudios clínicos para la LLC-B (Porter et al. N Engl J Med. 2011; 365:725-33) y LLA B (Grupp et al. N Engl J Med. 2013). Tal como se observó con la infusión de un anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3, la transferencia adoptiva de células T transducidas con CAR de CD19 en pacientes dio lugar a una erradicación rápida y mantenida de células B normales y malignas. Los eventos adversos comunes asociados con la terapia con células T de CAR de CD19 incluyeron el síndrome de liberación de citoquinas y linfopenia, pero también se informaron casos de EA del SNC. Por lo tanto, la interferencia con la adhesión y la trans migración de las células T de CAR de CD19 al/a través del endotelio del revestimiento de los vasos sanguíneos también es un enfoque conveniente para la profilaxis y/o la mejora de los EA del SNC inducidos por las células T de CAR de CD19. Cabe señalar que se prevé que el tratamiento con células T de CAR dirigidas a otros antígenos específicos de células B (por ejemplo, CD20) también se beneficiaría de la comedición con compuestos con propiedades antiadhesivas para la profilaxis y/o la mejora de los EA del SNC provocados por dichas células T de CAR.

30 El "receptor de antígeno quimérico (CAR)", tal como se utiliza en el presente documento, comprende un dominio de unión que es específico para las células B, preferentemente específico para un marcador de CD que se puede encontrar en el linfoma de células B, tal como CD19, CD22, CD20 o CD79a, prefiriéndose CD19. Las células T que se han modificado por ingeniería genética para expresar un receptor de antígeno quimérico CAR (un CAR de células T) se ilustran en el documento WO2007/131092. Mientras tanto, se sabe que también una terapia que comprende un CAR de células T desencadena eventos adversos clínicos, y en particular EA del SNC.

40 En el presente documento se describe además un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR) para su uso en un procedimiento de redireccionamiento de células T contra células diana en un sujeto tal como se describe en el presente documento. Una secuencia de ácido nucleico, por lo tanto, incluye, aunque no se limita a los mismos, vectores, etc., que permitirán la expresión de los CAR deseados en células T (véase, por ejemplo, el documento WO2007/131092).

45 El término "células diana" no se limita específicamente y se refiere preferentemente a células diana cancerosas (en particular, las células cancerosas que expresan una diana adecuada que las hace atacables). Las células de linfoma B son las más preferidas, siendo las más preferidas las células B positivas para CD19 (células de linfoma B).

50 El término "sujeto" incluye a todos los mamíferos, pero no se limita a ratones, ratas, perros, caballos, camellos, primates, etc., prefiriéndose los primates y siendo los seres humanos los más preferidos. En una forma de realización preferida, se sospecha/se supone que el sujeto comprende o ya comprende células B malignas positivas para CD19. En este último caso, a dicho paciente ya se le ha diagnosticado que comprende dichas células. Las células B malignas positivas para CD19 están presentes en un sujeto que desarrolla y/o padece LLA. Preferentemente, un sujeto que se tratará o se trata con una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana está (o se ha) estratificado por riesgo de acuerdo con el procedimiento tal como se describe en el presente documento. Cuando se usa en el presente documento, el término "sujeto" se usa de manera equivalente con el término "paciente". Por lo tanto, estos dos términos se pueden usar indistintamente en el presente documento. El término "sujeto", tal como se utiliza en el presente documento, incluye sujetos humanos no adultos y adultos. El término "LLA adulta" o "paciente con LLA adulta" o "paciente adulto" tal como se menciona en el presente documento denota adultos mayores de 18 años, es decir, pacientes de 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, o 50 años o más. Pueden tratarse incluso los pacientes con 70, 75, 80, 85, 90, 100 años o más. El término "LLA pediátrica" o "LLA infantil" debe entenderse como LLA de un sujeto pediátrico con edades comprendidas entre 1 mes (incluido 1 mes) y 18 años (incluidos los 18 años).

65 Las "células endoteliales" de mamíferos se pueden aislar de grandes vasos o de capilares. El término "células endoteliales" incluye de este modo células endoteliales recién aisladas (por ejemplo, HUVEC), células endoteliales disponibles comercialmente de diferentes fabricantes (por ejemplo, PromoCell) y líneas celulares endoteliales, aunque las líneas celulares endoteliales son menos preferidas. Se prefieren las células endoteliales humanas. Las células

endoteliales de la vena de cordón umbilical humano (HUVEC) y las células endoteliales microvasculares de cerebro humano (HBMEC) son particularmente preferidas, siendo las más preferidas las HBMEC.

El grado de un efecto adverso puede, por ejemplo, medirse de acuerdo con los Criterios de Terminología Comunes para Eventos Adversos v3.0 (CTCAE) del NCI (Fecha de publicación: 12 de diciembre de 2003) en grados. Un grado se refiere a la gravedad de los efectos adversos. El CTCAE v3.0 muestra los grados 1 a 5 con descripciones clínicas únicas de la gravedad de cada efecto adverso. El grado 1 se refiere a EA leves, el grado 2 a EA moderados, el grado 3 a EA graves, el grado 4 a EA discapacitantes o con discapacidad, mientras que el grado 5 significa muerte relacionada con los EA. Todos estos EA se contemplan en el marco de la presente invención y se incluyen con el término "eventos clínicos adversos" o "efectos adversos" o términos relacionados que se usan en el presente documento.

El término "eventos adversos clínicos", utilizado en el presente documento, provocados por una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana en un paciente comprende en particular eventos adversos neurológicos. Dicho evento adverso neurológico, que a veces también se denomina "síntoma neurológico" o "efecto adverso neurológico" o "evento adverso del sistema nervioso central (EA SNC)", incluye pero sin limitación, las afecciones de un sujeto, preferentemente un sujeto humano, tales como todas las formas de dolor, cefalea, debilidad/falta de coordinación muscular, trastorno del equilibrio, trastorno/alteración del habla, alteración/anomalías sensoriales, mareos, ataxia, apraxia, temblor, afasia, disfasia, confusión, desorientación, alucinaciones, síntomas cerebelosos, encefalopatía, convulsiones, convulsiones (de tipo gran mal). Específicamente, los síntomas neurológicos observados durante el tratamiento con una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, por ejemplo, a través de la transducción de células T con CAR o reclutamiento de células T por medio de un compuesto que comprende un dominio de unión específico para CD3 incluyen, por ejemplo, confusión y desorientación. "Confusión", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la pérdida de orientación, que es la capacidad para ubicarse correctamente en el mundo en el tiempo, la ubicación y la identidad personal, y con frecuencia la memoria es la capacidad de recordar eventos anteriores o aprender material nuevo. Los pacientes generalmente tienen dificultades para concentrarse y el pensamiento no solo es confuso y poco claro, sino que a menudo se ralentiza significativamente. Los pacientes con síntomas neurológicos también padecen pérdida de memoria. Con frecuencia, la confusión conduce a la pérdida de la capacidad de reconocer a personas y/o lugares, o de indicar la hora y la fecha. Los sentimientos de desorientación son frecuentes en la confusión, y la capacidad de tomar decisiones se ve afectada. Los síntomas neurológicos comprenden además dificultades para hablar y/o encontrar palabras. Este trastorno puede afectar la expresión y comprensión del lenguaje, así como la lectura y la escritura. Además, en algunos pacientes, los síntomas neurológicos en síntomas pueden estar acompañados por vértigo y mareo.

El término "potencial", cuando se utiliza en el contexto de efectos adversos, significa que, aunque un sujeto puede tener menos del 20% de células blásticas por 200 células blásticas contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto y/o más de 5 células blásticas en una muestra de LCR de dicho sujeto, dicho sujeto no necesariamente tiene que experimentar efectos adversos. En consecuencia, el término "posible" implica que el procedimiento divulgado en el presente documento proporciona predicciones sobre si un sujeto puede o no tener efectos adversos, pero, por sí solo, no puede proporcionar una predicción segura al 100%, ya que, aparte de la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de un sujeto y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto, factores individuales tales como sexo, edad, peso, estado nutricional y estado de salud, la medicación previa, etc. pueden influir sobre si un sujeto experimentará o no efectos adversos.

Tal como se explica en el presente documento, el procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B permite clasificar a los sujetos en categorías de riesgo en función de la cantidad de células blásticas en una médula ósea de un sujeto y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto. Específicamente,

(i) una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

(ii) un número de 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

(iii) una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, y simultáneamente un número de 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

(iv) una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

(v) un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana; o

(vi) una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, y simultáneamente un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra las células diana.

El término "indicativo de" cuando se usa en el contexto de los procedimientos y usos en el presente documento significa que la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto y/o un número de células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de un sujeto es un factor de riesgo potencial o un indicador de riesgo en cuanto a si un sujeto puede o no tener un riesgo reducido o nulo de una reacción neurológica adversa o puede tener un riesgo mayor de una reacción neurológica adversa, respectivamente. Por lo tanto, la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto y/o un número de células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de un sujeto son, por así decirlo, biomarcadores de la estratificación del riesgo.

En una forma de realización, los sujetos de las categorías (v) y (vi) están sujetos preferentemente a quimioterapia intratecal antes del tratamiento con la terapia tal como se describe en el presente documento. Esto se prevé con el fin de reducir el número de células blásticas en el SNC o, idealmente, incluso eliminarlas en el SNC, ya que dichas células son células diana de la terapia que se describe en el presente documento, por lo que la destrucción de dichas células diana en el SNC puede causar reacciones neurológicas adversas en línea con las consideraciones de los autores de la presente invención y las observaciones de los ensayos clínicos.

Los sujetos de la categoría (i) en una forma de realización se someten preferentemente a quimioterapia y/o tratamiento con cortisona antes del tratamiento con la terapia tal como se describe en el presente documento, si dichos sujetos tienen una cantidad de blastos en una muestra de médula ósea del 50% o superior. Esto se prevé para evitar un posible síndrome de lisis tumoral.

Sobre la base de los hallazgos de los autores de la presente invención, es posible aplicar una gestión del riesgo para sujetos que padecen LLA de precursores B con el objetivo de reducir o incluso eliminar los posibles efectos secundarios adversos, en particular, las posibles reacciones neurológicas adversas.

En consecuencia, la presente invención proporciona un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 para su uso en un procedimiento para tratar la LLA de precursores B pediátrica en un sujeto, en el que dicho sujeto es un sujeto que tiene una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por cada 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto.

También se divulga en el presente documento un procedimiento para tratar la LLA de precursores B en un sujeto, que comprende someter a un sujeto que lo necesita a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana, siendo dicho sujeto

(a) un sujeto con más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto,

(b) un sujeto que tiene una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; o

(c) un sujeto que tiene una cantidad de menos de el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto y que tiene 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto.

Con respecto a la presente invención, un "dominio de unión específico para CD3", que a veces también se denomina en el presente documento "dominio de unión a CD3", caracteriza un dominio de unión que comprende un marco/una región marco y un "sitio de unión a antígeno" o un "sitio de interacción con el antígeno" que es capaz de interactuar de manera específica con un antígeno CD3. También se entiende que dicha unión/interacción define un "reconocimiento específico". El término "interaccionar de manera específica/interaccionar" significa de acuerdo con la presente invención que el dominio de unión es capaz de unirse a al menos dos, preferentemente al menos tres, de forma más preferida al menos cuatro aminoácidos del antígeno CD3, preferentemente del antígeno CD3epsilon, y de forma más preferida del antígeno CD3epsilon humano. Dichos dominios de unión a CD3, así como epítopos

específicos de CD3epsilon, son bien conocidos por los expertos y se ejemplifican muy detalladamente, por ejemplo, en el documento WO2008119567 o en el documento WO2008119566.

5 Una reacción neurológica puede ser una o más seleccionadas de entre el grupo que consiste en: confusión, ataxia, desorientación, disfasia, afasia, alteración del habla, síntomas cerebelosos, temblor, apraxia, convulsiones, convulsiones de tipo gran mal, parálisis y trastorno del equilibrio.

10 En el contexto de la presente invención, la terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana en un sujeto es un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3.

15 Tal como se divulga en el presente documento, una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana en un sujeto puede incluir también una célula T modificada por ingeniería genética que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR).

Se prefiere particularmente en el contexto de la invención que el anticuerpo monocatenario biespecífico CD19 x CD3 sea blinatumomab (AMG 103).

En una forma de realización preferida, la terapia es para un ser humano.

20 Tal como se utiliza en el presente documento, "CD3" denota una molécula expresada como parte del complejo receptor de células T y tiene el significado que se le atribuye normalmente en la técnica anterior. En seres humanos, abarca de forma individual o combinada de manera independiente todas las subunidades CD3 conocidas, por ejemplo, CD3epsilon, CD3delta, CD3gamma y CD3zeta. El antígeno CD3epsilon humano está publicado en Genbank con el número de acceso NM_000733.

25 Un ejemplo preferido de un dominio de unión específica a CD3 en línea con la presente invención es un anticuerpo. El dominio de unión específica a CD3 puede ser un anticuerpo monoclonal o policlonal o derivado de un anticuerpo monoclonal o policlonal. El término "anticuerpo" comprende derivados o fragmentos funcionales del mismo que aún conservan la especificidad de unión. Las técnicas para la producción de anticuerpos son bien conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en Harlow y Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988 y Harlow y Lane "Using Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999. El término "anticuerpo" también comprende inmunoglobulinas (Ig) de diferentes clases (es decir, IgA, IgG, IgM, IgD e IgE) y subclases (tales como IgG1, IgG2, etc.). La definición del término "anticuerpo" también incluye formas de realización tales como anticuerpos quiméricos, monocatenarios, desinmunizados y humanizados, así como fragmentos de anticuerpos, tales como, entre otros, fragmentos Fab. Los fragmentos o derivados de anticuerpos comprenden además fragmentos F(ab')₂, Fv, scFv o anticuerpos de dominio único, anticuerpos de dominio variable único o dominio variable único de inmunoglobulina que comprende únicamente un dominio variable, que puede ser VH o VL, que se une específicamente a un antígeno o epítipo independientemente de otras regiones V o dominios; véase, por ejemplo, Harlow y Lane (1988) y (1999), citados anteriormente. Dicho dominio variable único de inmunoglobulina abarca no solo un polipéptido de dominio variable único de anticuerpo aislado, sino también polipéptidos más grandes que comprenden uno o más monómeros de una secuencia de polipéptido de dominio variable único de anticuerpo.

45 El término "(región) marco" incluye un andamio para los sitios de unión a antígeno. Por ejemplo, dicho andamio podría ser proporcionado por la proteína A, en particular, el dominio Z de la misma (anticuerpos), Imme7 (proteínas de inmunidad), BPTI/APPI (dominios de Kunitz), proteína de unión a Ras AF-6 (dominios de PDZ), charibdotoxina (toxina del escorpión), CTLA-4, Min-23 (knotinas), lipocalinas (anticalinas), neocarzinostatina, un dominio de fibronectina, un dominio de repetición de consenso de anquirina o tiorredoxina (Skerra. Curr Opin Biotechnol. 2007; 18:295-304; Hosse et al. Protein Sci. 2006; 15:14-27; Nicaise et al. Protein Sci. 2004; 13:1882-91; Nygren y Uhlén. Curr Opin Struct Biol. 1997; 7:463-9).

50 En el contexto de la presente invención, un marco preferido son las porciones reconocidas en la técnica de una región variable de anticuerpo que existen entre las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) más divergentes (es decir, hipervariables) dentro de la región variable de un anticuerpo. Dichas regiones marco se denominan normalmente marcos 1 a 4 (FR1, FR2, FR3 y FR4) y proporcionan andamios para la presentación de las seis CDR (tres de la cadena pesada y tres de la cadena ligera) en un espacio tridimensional, para formar una superficie de unión a antígeno.

60 Dicho dominio de unión a CD3 está contenido en, o está comprendido por, un anticuerpo monocatenario biespecífico según la presente invención. Según la presente divulgación, dicho anticuerpo biespecífico monocatenario comprende además un dominio de unión que es específico para células B, preferentemente específico para un marcador de CD que se puede encontrar en el linfoma de células B tal como CD19, CD22, CD20 o CD79a, prefiriéndose CD19. Según la presente divulgación, dicho anticuerpo monocatenario biespecífico es un anticuerpo monocatenario CD20 x CD3. Según la presente invención, dicho anticuerpo monocatenario biespecífico comprende además un dominio de unión que es específico para CD19, es decir, es un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3. En una forma de realización aún más preferida, dicho anticuerpo biespecífico monocatenario CD19 x CD3 es blinatumomab (MT103/AMG 103). En otra forma de realización preferida adicional de la presente invención, dichos anticuerpos

biespecíficos monocatenarios CD19 x CD3 comprenden un primer dominio de unión capaz de unirse a un epítipo de CD3epsilon humano y un segundo dominio de unión capaz de unirse a CD19 humano. Los antígenos CD humanos se encuentran fácilmente en bases de datos disponibles públicamente. El antígeno CD19 humano, por ejemplo, está publicado en Genbank con el número de acceso AAA69966.

5 Todos los anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 ahí divulgados, incluidas sus variantes, fragmentos, equivalentes, etc., son los anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 particularmente preferidos de la presente invención.

10 Tal como se utiliza en el presente documento, un "anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3" denota una cadena polipeptídica sencilla que comprende dos dominios de unión. Dichos anticuerpos biespecíficos monocatenarios se prefieren en el contexto de los procedimientos/régimen de dosificación de la presente invención. Cada dominio de unión comprende al menos una región variable de una cadena pesada de anticuerpo ("región VH o H"), en el que la región VH del primer dominio de unión se une específicamente a CD3epsilon y la región VH del
 15 segundo dominio de unión se une específicamente a CD19. Los dos dominios de unión están unidos opcionalmente entre sí por un espaciador polipeptídico corto. Un ejemplo no limitante para un polipéptido espaciador es Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (G-G-G-G-S) y repeticiones del mismo. Cada dominio de unión puede comprender adicionalmente una región variable de una cadena ligera de anticuerpo ("región VL o L"), estando la región VH y la región VL dentro de cada uno de los dominios de unión primero y segundo unidas entre sí a través de un enlazador polipeptídico, por ejemplo, del
 20 tipo que se divulga y reivindica en el documento EP 623679 B1, pero en cualquier caso suficientemente largo para permitir que la región VH y la región VL del primer dominio de unión y la región VH y la región VL del segundo dominio de unión se emparejen entre sí de manera que, juntas, sean capaces de unirse específicamente al primer y segundo dominio de unión respectivo. Dichos anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 se describen muy detalladamente en los documentos WO 99/54440 y WO 2004/106381.

25 Preferentemente, el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 para su uso según la presente invención tiene la disposición (a) VL(CD19)-VH(CD19)-VH(CD3)-VL(CD3). Sin embargo, también se contempla que la invención se pueda llevar a cabo con anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 de otras disposiciones de dominio, tales como

- 30 (b) VH(CD19)-VL(CD19)-VH(CD3)-VL(CD3),
 (c) VL(CD19)-VH(CD19)-VL(CD3)-VH(CD3),
 35 (d) VH(CD19)-VL(CD19)-VL(CD3)-VH(CD3),
 (e) VL(CD3)-VH(CD3)-VH(CD19)-VL(CD19),
 (f) VH(CD3)-VL(CD3)-VH(CD19)-VL(CD19),
 40 (g) VL(CD3)-VH(CD3)-VL(CD19)-VH(CD19), o
 (h) VH(CD3)-VL(CD3)-VL(CD19)-VH(CD19).

45 Un anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 para su uso según la presente invención comprende las

- (a) CDR anti-CD3 de la cadena pesada mostrada como CD3 CDR-H1 en la SEQ ID NO: 11 (RYTMH), de forma más preferida en la SEQ ID NO: 11 (GYTFTRYTMH), CD3 CDR-H2 en la SEQ ID NO: 12 (YINPSRGYTNYNQKFKD) y CD3 CDR-H3 en la SEQ ID NO: 13 (YYDDHYCLDY); y/o
 50 (b) CDR anti-CD3 de la cadena ligera mostrada como CD3 CDR-L1 en la SEQ ID NO: 14 (RASSSVSYMN), CD3 CDR-L2 en la SEQ ID NO: 15 (DTSKVAS) y CD3 CDR-L3 en la SEQ ID NO: 16 (QQWSSNPLT); y/o
 (c) CDR anti-CD19 de la cadena pesada mostrada como CD19 CDR-H1 en la SEQ ID NO: 17 (SYWMN), de forma más preferida en la SEQ ID NO: 17 (GYAFSSYWMN), CD19 CDR-H2 en la SEQ ID NO: 18 (QIWPGDGDNTYNGKFKG) y CD19 CDR-H3 en la SEQ ID NO: 19 (RETTTVGRYYYYAMDY); y/o
 55 (d) CDR anti-CD19 de la cadena ligera mostrada como CD19 CDR-L1 en la SEQ ID NO: 20 (KASQSVYDGDGDSYLN), CD19 CDR-L2 en la SEQ ID NO: 21 (DASNLVS) y CD19 CDR-L3 en la SEQ ID NO: 22 (QQSTEDPWT).
 60

Es más preferible que el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 para su uso según la presente invención comprenda las CD3 CDR de la cadena pesada y ligera. Incluso de forma más preferida, el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 para su uso según la presente invención comprende las CD3 CDR de la cadena pesada y ligera, así como las CD19 CDR de la cadena pesada y ligera.

Las CDR a los que se hace referencia en el presente documento son acordes al sistema de numeración de Kabat. El esquema de numeración de Kabat es un estándar ampliamente adoptado para numerar los residuos de un anticuerpo de manera coherente (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 1991).

5 De manera alternativa, se prefiere que el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 para su uso según la presente invención comprenda la

(a) cadena pesada variable de CD19 mostrada en SEQ ID NO: 3 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 4); y/o

10 (b) cadena ligera variable de CD19 mostrada en SEQ ID NO: 5 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 6); y/o

15 (c) cadena pesada variable de CD3 mostrada en SEQ ID NO: 7 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 8); y/o

(d) cadena ligera variable de CD3 mostrada en SEQ ID NO: 9 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 10).

20 De forma más preferida, el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 para su uso según la presente invención comprende la cadena pesada y ligera variable de CD19 y/o la cadena pesada y ligera variable de CD3. Incluso de forma más preferida, el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 para su uso según la presente invención comprende la cadena pesada y ligera variable de CD19 así como la cadena pesada y ligera variable de CD3.

25 En otra alternativa, también se prefiere que el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 comprenda una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en

(a) una secuencia de aminoácidos como se representa en SEQ ID NO: 1;

30 (b) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico como se muestra en SEQ ID NO: 2;

(c) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos el 70%, 80%, 90%, 95% o 99% de identidad con una secuencia de ácido nucleico de (b), en el que dicha secuencia de aminoácidos es capaz de unirse específicamente a CD3 y CD19; y

35 (d) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico que está degenerada como resultado del código genético a una secuencia de nucleótidos de (b), en el que dicha secuencia de aminoácidos es capaz de unirse específicamente a CD3 y CD19.

40 Debe entenderse que la identidad de la secuencia se determina a lo largo de toda la secuencia de aminoácidos. Para alineamientos de secuencias, se pueden usar, por ejemplo, los programas Gap o BestFit (Needleman y Wunsch. J Mol Biol. 1970; 48:443-53; Smith y Waterman. Adv Appl Math. 1981; 2:482-9), que están contenidos en el paquete informático GCG (Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711). Es un procedimiento de rutina para los expertos en la técnica determinar e identificar una secuencia de aminoácidos que tiene, por ejemplo, el 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 descritos en el presente documento (preferentemente blinatumomab). Por ejemplo, de acuerdo con la hipótesis del balanceo de Crick, la base 5' en el anticodón no está tan limitada espacialmente como las otras dos bases, y por lo tanto, podría tener un emparejamiento de bases atípico. En otras palabras: la tercera posición en un triplete de codón puede variar, de modo que dos tripletes que difieren en esta tercera posición pueden codificar el mismo residuo de aminoácido. Dicha hipótesis es bien conocida por el experto en la técnica (véase, por ejemplo, http://en.wikipedia.org/wiki/Wobble_Hypothesis; Crick. J Mol Biol. 1966; 19:548-55). Además, es un procedimiento de rutina para los expertos en la técnica determinar la actividad citotóxica de una secuencia de aminoácidos de este tipo que tiene, por ejemplo, el 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con las secuencias de nucleótidos o aminoácidos de los anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 que se describen en el presente documento. La actividad citotóxica del anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 o de una construcción de anticuerpo que tiene, por ejemplo, el 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 que se describen en el presente documento puede determinarse mediante los procedimientos que se ilustran, por ejemplo, en el documento WO 99/54440.

Se prefiere particularmente que dicho anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 tenga la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1. También se prefiere particularmente el anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 tal como se describe en el documento WO 99/54440 así como aquellos anticuerpos biespecíficos monocatenarios CD19xCD3 descritos en los documentos WO 2004/106381 y WO 2008/119565. El blinatumomab (o AMG 103 o MT103) es el más preferido. También se prefiere que el anticuerpo biespecífico

monocatenario que se aplica en el contexto de la presente invención tenga una etiqueta N y/o C-terminal, preferentemente una etiqueta C terminal. Un ejemplo preferido de una etiqueta C-terminal es una etiqueta His. Dicha etiqueta His comprende o consiste en seis residuos de histidina de longitud. Es incluso más preferido que dicha etiqueta His tenga seis residuos de histidina de longitud y se ubique en el extremo C-terminal del anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 de la presente invención. Por lo tanto, en una forma de realización particularmente preferida de la presente invención, dicho anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 comprende o consiste en un polipéptido tal como se representa por la SEQ ID NO: 1 y adicionalmente una etiqueta hexa-histidina (HHHHHH) que se encuentra en el extremo C-terminal. También se prefiere que la etiqueta de purificación de proteínas (siendo la etiqueta His más preferida y la etiqueta Hexa-His la más preferida) esté unida al extremo C-terminal de dicho anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 de la presente invención (que consiste preferentemente en o que comprende la SEQ ID NO: 1) a través de un enlace peptídico.

En otra forma de realización preferida, se produce dicho anticuerpo biespecífico monocatenario CD19xCD3 que incluye la(s) etiqueta(s) de purificación de proteínas mencionada(s) anteriormente, siendo preferidas las etiquetas His y siendo más preferidas las etiquetas Hexa-His en el extremo C-terminal, en una célula huésped tal como se define en el presente documento. CHO es, por lo tanto, una célula huésped particularmente preferida.

"Administración" o "administrar" o cualquier otra forma gramatical del mismo tal como se utiliza en el presente documento significa que un compuesto de una terapia tal como se describe en el presente documento, tal como un dominio de unión a CD3 o células T que tienen un receptor de antígeno quimérico está en forma de una composición farmacéutica, que comprende opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Dicho compuesto puede ser el único agente terapéutico en dicha composición farmacéutica o estar en combinación con otro agente terapéutico. Por lo tanto, se prevé que la composición farmacéutica divulgada en el presente documento se emplee en enfoques de terapia conjunta, es decir, en administración conjunta con otros medicamentos o fármacos, por ejemplo, otros medicamentos para tratar la LLA y/o cualquier otro agente terapéutico que pueda ser beneficioso en el contexto de los procedimientos descritos en el presente documento.

La administración de una composición farmacéutica a la que se hace referencia en el presente documento es preferentemente una administración intravenosa. Puede administrarse como una inyección en embolada o de forma continua (continuadamente). La administración puede ser una inyección en embolada o de manera continua o continuadamente, tal como también se usa a veces en el presente documento, prefiriéndose de manera continua o continuadamente. Una administración continua se refiere a una administración que es esencialmente sin interrupción. "Esencialmente sin interrupción" incluye una administración continua, por lo general sin un flujo ininterrumpido o extensión espacial.

Por "cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende una dosis que produce los efectos para los que se administra, preferentemente el efecto es la reducción de las células blásticas malignas. La reducción incluye la eliminación de las células blásticas malignas o la conversión de un estado de leucemia linfoblástica aguda (LLA) positiva en cuanto a la enfermedad mínima residual (EMR) a un estado de LLA negativa en cuanto a la EMR.

El médico responsable y los factores clínicos determinarán el régimen de dosificación. Tal como se sabe bien en la técnica médica, las dosificaciones para cualquier paciente dependen de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área de superficie corporal, la edad, el compuesto particular que se va a administrar, el sexo, el tiempo y la vía de administración, la salud general y otros fármacos administrados simultáneamente. Tal como se sabe bien en la técnica médica, las dosificaciones para cualquier paciente dependen de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente adulto, el área de superficie corporal, la edad, el compuesto particular que se va a administrar, el sexo, el tiempo y la vía de administración, la salud general y otros fármacos administrados simultáneamente. Una dosis típica puede encontrarse, por ejemplo, en los intervalos establecidos en las formas de realización de la invención y los ejemplos adjuntos; sin embargo, se prevén dosis por debajo o por encima de este intervalo de ejemplo, particularmente considerando los factores mencionados anteriormente. La dosis exacta dependerá del propósito del tratamiento, y un experto en la técnica la podrá determinar usando técnicas conocidas. Tal como se sabe en la técnica y se ha descrito anteriormente, pueden ser necesarios ajustes por edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, interacción farmacológica y la gravedad de la afección, y se podrán determinar con experimentación rutinaria por parte de los expertos en la técnica. El efecto terapéutico de los respectivos procedimientos o etapas del procedimiento de la presente invención es además detectable por todos los procedimientos y enfoques establecidos que indicarán un efecto terapéutico. Por ejemplo, se prevé que el efecto terapéutico se detecte mediante resección quirúrgica o biopsia de un tejido/órgano afectado que se analice posteriormente mediante técnicas inmunohistoquímicas (IHC) o inmunológicas comparables. Como alternativa, también se contempla que se detecten los marcadores tumorales en el suero del paciente (si están presentes) para diagnosticar si el enfoque terapéutico ya es eficaz o no. Adicionalmente o como alternativa, también es posible evaluar la apariencia general del paciente respectivo (condición física, bienestar, disminución de la enfermedad mediada por tumores, etc.), que también le ayudará al profesional experto a evaluar si ya existe un efecto terapéutico. El experto en la técnica conoce otras numerosas formas que le permitirán observar un efecto terapéutico de los compuestos de la presente invención.

El término "tratamiento", tal como se utiliza en el presente documento, significa, en el sentido más amplio, procedimientos o aplicaciones médicas destinadas a aliviar la enfermedad. En el presente caso, la aplicación de una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana tal como se describe en el presente documento es para el tratamiento, la mejoría o la eliminación de la enfermedad de la LLA en sujetos.

El término "mejoría", tal como se utiliza en el presente documento, es sinónimo de mejora. Si un sujeto que padece LLA muestra una mejoría, el sujeto está claramente mejor, entonces hay una mejora de su afección. Por ejemplo, puede ser una mejora en la afección del sujeto con LLA, si se puede lograr una estabilización de la enfermedad LLA (también denominada enfermedad estable), es decir, la enfermedad LLA ya no es progresiva. Aún mejor, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) positiva en cuanto a la EMR se convierte en un estado negativo en cuanto a la EMR.

El término "eliminación", tal como se utiliza en el presente documento, significa la eliminación de células leucémicas del organismo de un sujeto con LLA.

Tal como se ha mencionado anteriormente, los autores de la presente invención descubrieron que la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto puede usarse como marcadores de la estratificación del riesgo de estratificación para una gestión del riesgo de los sujetos que padecen LLA de precursores B y que están destinados a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T.

En consecuencia, la presente divulgación también se refiere al uso de una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa, en el que una cantidad de al menos 20% de células blásticas por 200 de células de la médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

Además, la presente divulgación proporciona un uso de una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa, en el que 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

Además, la presente divulgación se refiere en otro aspecto más al uso de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa, en el que una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por cada 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

La presente divulgación también abarca el uso del número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa, en el que una cantidad de 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

Además, la presente divulgación proporciona un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B, que comprende determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto, en el que una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por cada 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

De manera similar, la presente divulgación proporciona un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B, que comprende determinar el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto, en el que un número de 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

De acuerdo con la presente divulgación, se entiende por el término "muestra" cualquier muestra biológica obtenida de un paciente humano que contiene polinucleótidos o polipéptidos o partes de los mismos. Las muestras biológicas incluyen fluidos corporales (tales como sangre, suero, plasma, orina, saliva, líquido sinovial y líquido cefalorraquídeo) y fuentes de tejido en los que se encuentran en linfocitos malignos positivos para CD19. Los procedimientos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales de pacientes son bien conocidos en la técnica. En general, se prefiere como fuente una muestra biológica que incluya células mononucleares de sangre periférica (PBMC), en particular, células B y células T.

Una muestra que incluye células mononucleares de sangre periférica (PBMC), en particular, células B y células T, se toma preferentemente de la sangre periférica de un paciente humano.

Otras muestras preferidas son sangre entera, suero, plasma o líquido sinovial, siendo el plasma o suero los más preferidos. Sin embargo, se prefiere particularmente una muestra de sangre periférica de un paciente humano.

5 Una muestra más preferida aplicada en los procedimientos y usos divulgados en el presente documento es una muestra de médula ósea de un sujeto y/o una muestra de LCR de un sujeto. El experto sabe cómo obtener dichas muestras.

10 La cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea se determina por medios y procedimientos conocidos en la técnica, preferentemente de acuerdo con las enseñanzas del libro de texto "Hematopathology" Faramarz Naeim, P. Nagesh Rao, Wayne W. Grody, Academic Press, Elsevier, 2008, en particular, de acuerdo con las enseñanzas del Capítulo 1, página 5, "Bone Marrow Examination" - "Bone marrow smears". Tal como se enseña en ese libro, se cuentan al menos 200 células por áreas seleccionadas al azar de un frotis de médula adecuadamente teñido y con suficientes células para calcular el recuento diferencial. En el contexto de la presente invención, en particular, se cuentan células blásticas en una muestra de médula ósea y su cantidad se determina por 200 células de médula ósea contadas.

15 El número de células blásticas en una muestra de LCR se determina por medios y procedimientos conocidos en la técnica. Normalmente, las células dentro de 1 µl de una muestra de CSF se tiñen adecuadamente para hacer que las células blásticas eventualmente presentes sean visibles y distinguibles de otras células y se cuenta el número total de células blásticas.

20 La presente divulgación proporciona además un kit que comprende un dominio de unión a CD3 e instrucciones que indican que

25 (i) una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

30 (ii) en la que un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

35 (iii) en la que una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, y simultáneamente un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

40 (iv) en la que una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana;

45 (v) en la que un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra células diana; o

50 (vi) en la que una cantidad inferior a aproximadamente el 20% de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, y simultáneamente un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende el redireccionamiento de células T contra las células diana.

55 Dicho kit es preferentemente un kit farmacéutico. Dicho kit preferentemente puede comprender además medios para administrar dicho dominio de unión a CD3, tal como una jeringa, una bolsa de infusión, una bomba, y similares.

Ejemplos

60 Se recopilaron y analizaron los datos de tres ensayos clínicos MT103-206, MT103-211 y MT103-205 con el objetivo de tratar la LLA de precursores B.

Ensayo	Indicación	Dosis	Número del paciente
MT103-206	LLA de precursores B recidivante/refractaria en adultos	5 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 5-15 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 5-15-30 $\mu\text{m}^2/\text{d}$	36
MT103-211	LLA de precursores B recidivante/refractaria en adultos	9-28 $\mu\text{m}^2/\text{d}$	61
MT103-205	LLA de precursores B recidivante/refractaria	5 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 15 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 30 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 1530 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 5-15 $\mu\text{m}^2/\text{d}$	> 50
Cantidad de células blásticas en la médula ósea por 200 células contadas			Eventos adversos
MT103-206 al 5%			22% (8 de 36)
MT103-211 al 10%			12% (23 de 189)
MT103-205 al 20%			< 2,5% (1 de > 50)

14-6.1.5.1.3 Incidencia of TEAE de al menos grado 3 según CTC/ al menos grave relacionados con la medicación en estudio según MedDRA SOC y PT - por dosis real recibida

Clase de órgano del sistema MedTRA Terminado preferido	5 µg/m ² /d (N=3)			15 µg/m ² /d (N=7)			5/15 µg/m ² /d (N=21)			5/15/30 µg/m ² /d (N=5)			Total (N=36)		
	AE n	Pat. n	Pat. %	AE n	Pat. n	Pat. %	AE n	Pat. n	Pat. %	AE n	Pat. n	Pat. %	AE n	Pat. n	Pat. %
TOTAL	7	2	(66,7%)	30	7	(100,0%)	31	11	(52,4%)	6	3	(60,0%)	74	23	(63,9%)
Infecciones e infestaciones	1	1	(33,3%)	1	1	(14,3%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	2	2	(5,6%)
Infección del sistema nervioso central	1	1	(33,3%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Sinusitis	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Trastornos de la sangre y el sistema linfático	1	1	(33,3%)	8	6	(85,7%)	7	5	(23,8%)	1	1	(20,0%)	17	13	(36,1%)
Leucopenia	0	0	(0,0%)	3	2	(28,6%)	3	2	(9,5%)	1	1	(20,0%)	7	5	(13,9%)
Linfopenia	0	0	(0,0%)	3	3	(42,9%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	3	3	(8,3%)
Trombocitopenia	1	1	(33,3%)	1	1	(14,3%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	3	3	(8,3%)
Anemia	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Coagulación intravascular diseminada	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Neutropenia	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Pancitopenia	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Trastornos del sistema inmunitario	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	2	2	(5,6%)
Síndrome de liberación de citoquinas	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	2	2	(5,6%)
Trastornos del metabolismo y de la nutrición	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	2	2	(5,6%)
Síndrome de lisis tumoral	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	2	2	(5,6%)
Trastornos psiquiátricos	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Desorientación	0	0	(0,0%)	1	1	(14,3%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Trastornos del sistema nervioso	5	2	(66,7%)	3	1	(14,3%)	6	3	(14,3%)	2	2	(40,0%)	16	8	(22,2%)
Encefalopatía	2	1	(33,3%)	3	1	(14,3%)	0	0	(0,0%)	1	1	(20,0%)	6	3	(8,3%)
Tembler	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	2	2	(9,5%)	1	1	(20,0%)	3	3	(8,3%)
Ataxia	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(4,8%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)
Apraxia	1	1	(33,3%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	0	0	(0,0%)	1	1	(2,8%)

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 para su uso en un procedimiento para tratar LLA de precursores B pediátrica en un sujeto, en el que dicho sujeto es un sujeto que tiene una cantidad de al menos el 20% de células blásticas por cada 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto.
2. El anticuerpo monocatenario biespecífico para su uso según la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 comprende las
- 10 (a) CDR anti-CD3 de la cadena pesada mostrada como CD3 CDR-H1 en la SEQ ID NO: 11 (RYTMH), de forma más preferida en la SEQ ID NO: 11 (GYTFTRYTMH), CD3 CDR-H2 en la SEQ ID NO: 12 (YINPSRGYTNYNQKFKD) y CD3 CDR-H3 en la SEQ ID NO: 13 (YYDDHYCLDY); y/o
- (b) CDR anti-CD3 de la cadena ligera mostrada como CD3 CDR-L1 en la SEQ ID NO: 14 (RASSSVSYMN), CD3 CDR-L2 en la SEQ ID NO: 15 (DTSKVAS) y CD3 CDR-L3 en la SEQ ID NO: 16 (QQWSSNPLT); y/o
- 15 (c) CDR anti-CD19 de la cadena pesada mostrada como CD19 CDR-H1 en la SEQ ID NO: 17 (SYWMN), de forma más preferida en la SEQ ID NO: 17 (GYAFSSYWMN), CD19 CDR-H2 en la SEQ ID NO: 18 (QIWPGDGDNTYNGKFKG) y CD19 CDR-H3 en la SEQ ID NO: 19 (RETTTVGRYYYAMDY); y/o
- (d) CDR anti-CD19 de la cadena ligera mostrada como CD19 CDR-L1 en la SEQ ID NO: 20 (KASQSVDYDGD SYLN), CD19 CDR-L2 en la SEQ ID NO: 21 (DASNLVS) y CD19 CDR-L3 en la SEQ ID NO: 22 (QQSTEDPWT).
- 20 3. El anticuerpo monocatenario biespecífico para su uso según la reivindicación 1 o 2, en el que dicho anticuerpo monocatenario biespecífico CD19xCD3 es blinatumomab (AMG 103).
- 25 4. El anticuerpo biespecífico monocatenario para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicho sujeto es un sujeto humano.