

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 824 574**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.01.2017 PCT/EP2017/051363**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.08.2017 WO17129537**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.01.2017 E 17701686 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2020 EP 3408673**

54 Título: **Método de predicción del resultado de un tratamiento con aflibercept de un paciente que se sospecha que padece un cáncer midiendo el nivel de un biomarcador de plasma**

30 Prioridad:

25.01.2016 EP 16305065

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

12.05.2021

73 Titular/es:

**SANOFI (100.0%)
54 Rue de la Boetie
75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**CHIRON-BLONDEL, MARIELLE;
DREYMANN, JENNIFER y
PACCARD, CAROLINE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 824 574 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método de predicción del resultado de un tratamiento con aflibercept de un paciente que se sospecha que padece un cáncer midiendo el nivel de un biomarcador de plasma

5 La presente invención se refiere al uso de VCAM-1, ICAM-1 y PIGF como biomarcador para predecir el resultado del tratamiento con aflibercept, o ziv-aflibercept, de un paciente que se sospecha que padece cáncer.

10 Aflibercept, o ziv-aflibercept, también denominado VEGFR1R2-Fc.DELTA.C1 Flt1D2.Flk1D3.Fc.DELTA.C1 o AVE0005, es una proteína homodímera, comprendiendo cada dímero dos monómeros idénticos, cada uno de los cuales es una proteína de fusión que comprende la secuencia señal de VEGFR1 fusionada con el dominio de Ig D2 del receptor de VEGFR1, él mismo fusionado con el dominio de Ig D3 del receptor de VEGFR2, a su vez fusionado con el dominio Fc de IgG1.

La cadena de la proteína está glucosilada, con N-acetil-glucosamina, fucosa, galactosa, manosa y ácidos siálicos que contribuyen a las estructuras de hidrato de carbono. Los oligosacáridos unidos en N consisten principalmente en estructuras biantenarias con cero, uno o dos ácidos siálicos terminales. El monómero tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID N° 1.

15 La Agencia Estadounidense del Medicamento (FDA) ya autorizó aflibercept con el nombre comercial EYLEA® para el tratamiento de pacientes con degeneración macular senil (DMS) neovascular (húmeda). En particular, EYLEA® es el nombre comercial para aflibercept como se generó, procesó y formuló para inyección intravítrea.

20 En el momento del registro de aflibercept (ZALTRAP®) para la indicación del cáncer, y en vista del uso autorizado por aflibercept en el tratamiento de DMS, la FDA solicitó que se le diera un nombre diferente (ziv-aflibercept) para el uso del compuesto en el tratamiento del cáncer. Así, ziv-aflibercept es el nombre adoptado en Estados Unidos (USAN) aceptado por la FDA para designar una composición farmacéutica que comprende aflibercept como se generó, procesó y formuló para inyección por infusión intravenosa. Ziv-aflibercept ha sido autorizado por la FDA para su venta con el nombre comercial ZALTRAP® para el tratamiento de cáncer colorrectal metastásico (CCRm).

25 La Agencia Europea de Medicamentos (EMA) también autorizó ZALTRAP®, sin embargo, no solicitó nombres separados para el compuesto. Así, en la Unión Europea el nombre "aflibercept" se usa independientemente de la indicación.

ZALTRAP® y EYLEA® se obtienen por procesos ligeramente diferentes. Ambos contienen aflibercept o ziv-aflibercept, pero la relación de agregados de aflibercept o ziv-aflibercept es ligeramente diferente en ZALTRAP® y EYLEA®.

30 La autorización de ZALTRAP® se basó en datos obtenidos del ensayo VELOUR - un ensayo de fase III multicéntrico, aleatorizado y controlado por placebo, que comparó la eficacia de aflibercept frente a placebo en combinación con la pauta FOLFIRI para pacientes con CCRm previamente tratado con una pauta que contiene oxaliplatino.

35 A pesar de la eficacia y la seguridad del tratamiento del cáncer por aflibercept, sigue siendo un objetivo identificar mejor los pacientes que se deben beneficiar más del tratamiento. De hecho, la capacidad para identificar pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCRm) que se beneficiarán de aflibercept mejoraría además la utilidad clínica de este fármaco.

Hasta la fecha, no se han identificado biomarcadores de suero o de plasma predictivos validados que correlacionen los resultados del tratamiento con aflibercept.

40 La evaluación del perfil de muestras de tumor y de plasma obtenidas de pacientes que participan en ensayos clínicos y el posterior análisis de sus datos genómicos / proteómicos y clínicos podría permitir el descubrimiento y la posible validación de biomarcadores predictivos.

Se ha descubierto ahora que altos niveles de VCAM-1, ICAM-1 y/o PIGF en el nivel basal se correlacionaron con tiempos de supervivencia más cortos.

45 La molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), también conocida como CD106, tiene la secuencia SEQ ID N° 1 (secuencia de referencia de NCBI: NP_001069.1). El término "VCAM-1" engloba sus homólogos e isoformas y variantes de los mismos, así como fragmentos de las secuencias, a condición de que las proteínas de variante (incluyendo isoformas), proteínas homólogas y/o fragmentos sean reconocidos por uno o más anticuerpos específicos para VCAM-1.

50 La molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), también conocida como CD54, tiene la secuencia SEQ ID N° 2 (Secuencia de referencia de NCBI: NP_000192.2). El término "ICAM-1" engloba sus homólogos e isoformas y variantes de los mismos, así como fragmentos de las secuencias, a condición de que las proteínas de variante (incluyendo isoformas), proteínas homólogas y/o fragmentos sean reconocidos por uno o más anticuerpos específicos contra ICAM-1.

- 5 El "factor de crecimiento placentario" o "PIGF" comprende las 2 isoformas PIGF1 y PIGF2 que tienen respectivamente las secuencias SEQ ID N° 3 (Secuencia de referencia de NCBI: NP_002623.2) y SEQ ID N° 4 (Secuencia de referencia de NCBI: NP_001193941.1). El término "PIGF " engloba PIGF1 y PIGF2, sus homólogos e isoformas y variantes de los mismos, así como fragmentos de las secuencias, a condición de que las proteínas de variante (incluyendo isoformas), proteínas homólogas y/o fragmentos sean reconocidos por uno o más anticuerpos específicos para PIGF.
- Se probó la correlación de ICAM-1 con el desenlace del paciente en ensayos clínicos donde los pacientes se trataron con bevacizumab.
- 10 Se encontró la correlación de ICAM-1 con el desenlace del paciente en el ensayo en donde pacientes con cáncer de pulmón se trataron con bevacizumab, cisplatino y etopósido (Horn et al., J Clin Oncol 2009; 27:6006-6011). Los autores encontraron que "los pacientes que tenían altos niveles de ICAM tuvieron una tendencia no significativa hacia SG mejorada en comparación con pacientes que tenían bajos niveles", mientras que en otro estudio (Dowlati et al., 2008, Clin Cancer Res 14(5), 1407) "los pacientes con ICAM basal bajo tuvieron una mayor respuesta que aquellos con ICAM alto".
- 15 Pero la correlación de ICAM-1 con el desenlace del paciente no se encontró en pacientes con cáncer colorrectal tratados con bevacizumab, capecitabina y oxaliplatino (Liu et al.; Cancer Medicine 2013; 2(2): 234-242).
- Baar et al. (Clin. Cancer Res. 2009) describen un ensayo de fase II diseñado para evaluar el efecto de biomarcadores adicionales sobre la angiogénesis cuando se añade bevacizumab a docetaxel.
- Estos artículos muestran el nivel de impredecibilidad entre diversos estudios de biomarcadores con los mismos productos biológicos, es decir, bevacizumab.
- 20 Además, bevacizumab es un anticuerpo anti-VEGF-A. Aflibercept no es un anticuerpo, sino una proteína quimérica. Consiste en porciones de dominios extracelulares de receptores de VEGF 1 y 2 humano fusionados con la porción Fc de IgG1 humana. Aflibercept se une no solo a VEGF-A, sino también a VEGF-B y al factor de crecimiento placentario (PIGF).
- 25 Así, bevacizumab y aflibercept tienen estructura y funciones que son muy diferentes y el experto en la técnica no trasladaría directamente los resultados obtenidos con bevacizumab a aflibercept.
- Se encontró una correlación de VCAM-1 con el desenlace del paciente en los dos ensayos clínicos mencionados anteriormente (Liu et al; Cancer Medicine 2013; 2(2): 234-242 y Horn et al., J Clin Oncol 2009; 27:6006-6011). Sin embargo, en estos dos estudios, no existe un grupo de placebo que permita saber si el efecto es predictivo o pronóstico.
- 30 La invención se refiere al uso de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1 para predecir el resultado del tratamiento con aflibercept, o ziv-aflibercept, de un paciente que se sospecha que padece un cáncer.
- 35 En un aspecto, la presente invención proporciona un método de determinación de si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept, o ziv-aflibercept, para dicho cáncer, que comprende la etapa de someter una muestra biológica del paciente a al menos un ensayo para medir en el nivel basal el nivel de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1, en donde cuando el nivel de biomarcador en la muestra biológica es bajo con respecto a un nivel de referencia de la expresión del biomarcador, se identifica que el paciente es un candidato a terapia para el cáncer.
- 40 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de determinación de si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept, o ziv-aflibercept, para dicho cáncer, que comprende la etapa de someter una muestra biológica del paciente a al menos un ensayo para medir en el nivel basal el nivel de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1, en donde cuando el nivel del biomarcador en la muestra biológica es alto con respecto a un nivel de referencia de expresión del biomarcador o umbral, se identifica que el paciente no es un candidato a terapia para el cáncer. El umbral o nivel de referencia de expresión del biomarcador permite definir poblaciones sensibles y no sensibles.
- 45 En una realización, el nivel de referencia de expresión de VCAM-1 comprende entre aproximadamente 406 ng/mL y aproximadamente 577 ng/mL. Aún en otra, el nivel de referencia de expresión de VCAM-1 es aproximadamente 553 ng/mL.
- 50 En otra realización, el nivel de referencia de expresión de ICAM-1 comprende entre aproximadamente 92 ng/mL y aproximadamente 145 ng/mL. Aún en otra, el nivel de referencia de expresión de ICAM-1 es aproximadamente 144 ng/mL.
- La invención también se refiere a un método de tratamiento de un paciente con un cáncer con aflibercept, o ziv-aflibercept, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de aflibercept, o ziv-aflibercept, al

paciente, en donde el nivel de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1 en la muestra biológica del paciente es bajo con respecto a un nivel de referencia de expresión del biomarcador.

5 Aún en otro aspecto, la invención se refiere a un método de mejora de la supervivencia sin progresión (SSP) y/o la supervivencia global (SG) de un paciente con un cáncer, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de aflibercept, o ziv-aflibercept, al paciente, en donde el nivel de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1 en la muestra biológica del paciente es bajo con respecto a un nivel de referencia de expresión del biomarcador.

En una realización de uno de los métodos descritos anteriormente, la muestra biológica se elige del grupo que consiste en sangre, suero y plasma.

10 En una realización de uno de los métodos descritos anteriormente, el cáncer es un cáncer de colon, un cáncer colorrectal o un cáncer rectal.

En una realización adicional de uno de los el cáncer colorrectal es un cáncer colorrectal metastásico.

15 En otra realización de la invención, el sujeto se trata con aflibercept y recibe además un tratamiento quimioterapéutico con oxaliplatino, 5-fluorouracilo (5-FU) y ácido folínico (es decir, el tratamiento FOLFOX), ácido folínico, 5-fluorouracilo e irinotecán (es decir, el tratamiento FOLFIRI), o 5-fluorouracilo y ácido folínico (es decir, el tratamiento FUFOL o LV5FU2).

20 El tratamiento quimioterapéutico puede combinar al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o como máximo 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 agentes, tales como, por ejemplo, una combinación de oxaliplatino, 5-fluorouracilo (5-FU) y ácido folínico (es decir, el tratamiento FOLFOX o el tratamiento FOLFOX6 modificado como se describe en el ejemplo más adelante), una combinación de ácido folínico, 5-fluorouracilo e irinotecán (es decir, el tratamiento FOLFIRI), o una combinación de 5-fluorouracilo y ácido folínico (es decir, el tratamiento FUFOL o LV5FU2).

A este respecto, la solicitud WO2012146610 se refiere a un método de tratamiento de CCRm por aflibercept, o ziv-aflibercept, en combinación con FOLFIRI. El contenido de la presente solicitud se incorpora como referencia.

25 En una realización de uno de los métodos descritos anteriormente, se administran a dicho paciente cantidades terapéuticamente eficaces de aflibercept, o ziv-aflibercept, oxaliplatino, 5-fluorouracilo (5-FU) y ácido folínico.

En una realización de uno de los métodos descritos anteriormente, se administran a dicho paciente cantidades terapéuticamente eficaces de aflibercept, o ziv-aflibercept, ácido folínico, 5-fluorouracilo (5-FU) e irinotecán.

30 En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, se administran al paciente ácido folínico en una dosis comprendida entre aproximadamente 200 mg/m² y aproximadamente 600 mg/m², 5-fluorouracilo (5-FU) en una dosis comprendida entre aproximadamente 2000 mg/m² y aproximadamente 4000 mg/m², irinotecán en una dosis comprendida entre aproximadamente 100 mg/m² y aproximadamente 300 mg/m² y aflibercept en una dosis comprendida entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg.

35 En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, se administran al paciente ácido folínico en una dosis de aproximadamente 400 mg/m², 5-fluorouracilo (5-FU) en una dosis de aproximadamente 2800 mg/m², irinotecán en una dosis de aproximadamente 180 mg/m² y aflibercept en una dosis de aproximadamente 4 mg/kg.

40 En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, el ácido folínico se administra por vía intravenosa en una dosis de aproximadamente 400 mg/m², el 5-fluorouracilo (5-FU) se administra por vía intravenosa en una dosis de aproximadamente 2800 mg/m², irinotecán se administra por vía intravenosa en una dosis de aproximadamente 180 mg/m² y aflibercept se administra por vía intravenosa en una dosis de aproximadamente 4 mg/kg y en donde la combinación se administra cada dos semanas.

En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, el ácido folínico, el 5-fluorouracilo (5-FU), irinotecán y aflibercept se administran por vía intravenosa cada dos semanas durante un periodo comprendido entre 9 y 18 semanas.

45 En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, el ácido folínico se administra por vía intravenosa inmediatamente después de la administración de aflibercept. También se puede administrar por vía intravenosa inmediatamente después de la administración de aflibercept durante un periodo de aproximadamente 2 horas.

50 En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, el irinotecán se administra por vía intravenosa inmediatamente después de la administración de aflibercept. También se puede administrar por vía intravenosa inmediatamente después de la administración de aflibercept durante un periodo de aproximadamente 90 minutos.

En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, se administra 5-fluorouracilo (5-FU) inmediatamente después de la administración de aflibercept.

En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente, una primera cantidad de 5- fluorouracilo (5-FU) se administra por vía intravenosa inmediatamente después de la administración de aflibercept y una segunda cantidad de 5-FU se administra por vía intravenosa después de la primera cantidad en infusión continua.

5 En una realización adicional de uno de los métodos descritos anteriormente aproximadamente, se administran 400 mg/m² de 5-fluorouracilo (5-FU) por vía intravenosa durante un periodo de 2 a 4 minutos después de la administración de aflibercept y en donde 2400 mg/m² de 5-FU se administran por vía intravenosa durante aproximadamente 46 horas después de la administración de los 400 mg/m² en infusión continua.

En una realización, dicho paciente se ha tratado previamente con terapia basada en oxaliplatino o en bevacizumab.

En otra realización, la quimioterapia, la radioterapia o la cirugía han fallado en dicho paciente.

10 La invención se refiere también a aflibercept, o ziv-aflibercept, para su uso en el tratamiento de un paciente que se sospecha que padece cáncer, en donde se ha identificado que el paciente tiene menor nivel de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1 en una muestra biológica en comparación con el nivel de referencia de expresión del biomarcador.

15 La invención se refiere además a un kit para predecir si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept, o ziv-aflibercept, comprendiendo el kit:

- a) medios para medir el nivel de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1; y
- b) opcionalmente, una etiqueta que proporciona instrucciones para el uso de dicho kit en predecir si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept, o ziv-aflibercept.

Otro aspecto de la invención se refiere además a un artículo de fabricación que comprende:

- 20 a) un material de embalaje;
- b) medios para medir el nivel de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1; y
- c) una etiqueta que proporciona instrucciones para el uso de dicho kit en predecir si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept, o ziv-aflibercept.

Los métodos y el uso anteriores de la invención pueden ser, por ejemplo, métodos y uso *in vitro* o *ex vivo*.

25 Se conocen bien en la técnica los medios para medir el nivel de expresión de la proteína VCAM-1 e ICAM-1 e incluyen inmunoensayo, tal como el ensayo de ELISA. Por ejemplo, los medios para medir VCAM-1 incluyen anticuerpos que se unen específicamente a VCAM-1.

30 El nivel de proteína VCAM-1 se puede determinar, por ejemplo, usando métodos de detección inmunológica tales como un ensayo de ELISA. Los métodos implican un anticuerpo que se une a la proteína VCAM-1, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal o policlonal, una variante de anticuerpo o fragmentos tales como un anticuerpo monocatenario, un díptico, un minicuerpo, un fragmento Fv de una sola cadena (sc(Fv)), un anticuerpo sc(Fv)₂, un fragmento Fab o un fragmento F(ab')₂, o un anticuerpo de un solo dominio. Dichos anticuerpos se conocen bien en la técnica y están comercialmente disponibles. También se pueden obtener en particular por inmunización de animales (por ejemplo, conejos, ratas o ratones) con la proteína VCAM-1. Los anticuerpos se pueden usar para determinar la expresión de proteínas en una variedad de ensayos inmunológicos que incluyen sistemas de ensayo competitivo y no competitivo que usan técnicas tales como transferencia Western, inmunohistoquímica/inmunofluorescencia (es decir, detección de proteínas en células o tejidos fijados), radioinmunoensayo tal como RIA (radioinmunoensayo), ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción), inmunoensayos de "sándwich", ensayos de inmunoprecipitación, ensayos de inmunodifusión, ensayos de aglutinación, ensayos de fijación del complemento, ensayos inmunoradiométricos, inmunoensayos fluorescentes, por ejemplo FIA (inmunoensayo asociado a fluorescencia), inmunoensayos de quimioluminiscencia, ECLIA (inmunoensayo de electroquimioluminiscencia) e inmunoensayos de proteína A. Dichos ensayos son habituales y bien conocidos por el experto en la técnica (Ausubel et al. (1994) Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York).

45 La expresión de proteínas de VCAM-1 se puede determinar por el método proteómico, tal como ensayos de espectrometría de masas (CL-EM o CL-EM/EM). Se conocen y se usan en la técnica las técnicas de espectrometría de masas cualitativa y cuantitativa. Para este objetivo, se seleccionan péptidos diana específicos de proteínas marcadoras y se cuantifican basándose en curvas de calibración establecidas con péptidos sintéticos marcados con isótopos estables. Los digestos enzimáticos, enriquecidos con una cantidad definida de péptidos diana marcados con isótopo, se analizan por cromatografía de líquidos acoplada con espectrometría de masas. La relación entre péptidos diana marcados y no marcados se mide para evaluar las concentraciones de péptido diana y, por tanto, la concentración de marcadores de proteína.

50 Los medios para medir el nivel de expresión de VCAM-1 también pueden incluir reactivos tales como, por ejemplo, reacción y/o tampones de lavado. Los medios pueden estar presentes, por ejemplo, en viales o placas de

microtitulación, o fijados a un soporte sólido tal como una micromatriz como puede ser el caso para cebadores y sondas.

Medios similares están a disposición del experto en la técnica para detectar ICAM-1

5 En una realización, las proteínas VCAM-1 e ICAM-1 se pueden medir con un ensayo múltiple basado en perlas, la tecnología Luminex™.

Se proporcionan aflibercept, o ziv-aflibercept, en una formulación que no es perjudicial para el paciente que se va a tratar.

En una realización, se proporciona aflibercept, o ziv-aflibercept, en una formulación con sacarosa y polisorbato 20 (estabilizadores), cloruro sódico, tampón citrato y tampón fosfato de sodio, ajustada al pH final.

10 En otra realización, se suministra aflibercept, o ziv-aflibercept, en dos presentaciones de medicamento:

- una presentación en 100 mg de aflibercept, o ziv-aflibercept / 4,0 mL (concentración nominal).
- una segunda presentación en 200 mg de aflibercept, o ziv-aflibercept / 8,0 mL (concentración nominal).

Ambas presentaciones se fabrican a partir de la misma disolución de cargar estéril a 25 mg/mL de aflibercept, o ziv-aflibercept.

15 Antes de la infusión al paciente, la disolución concentrada se diluye con 0,9 % de disolución de cloruro sódico o 5 % de dextrosa.

Los agentes antineoplásicos usados en el método o uso anteriormente citado se proporcionan en un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable que no es perjudicial para el paciente que se va a tratar.

20 Los vehículos y excipiente farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en las composiciones de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, sistemas autoemulsionantes de administración de fármacos (SEDDS) tales como succinato de d-a-tocoferol polietilenglicol 1000, tensioactivos usados en formas de dosificación farmacéuticas tales como Tween u otras matrices poliméricas de administración similares, proteínas séricas, tales como albúmina de suero humano, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxiopropileno, polietilenglicol y grasa de la lana.

30 Como aprecian los expertos en la técnica, las composiciones se formulan adecuadamente para ser compatibles con la vía de administración prevista. Los ejemplos de vías de administración adecuadas incluyen vía parenteral, que incluye, por ejemplo, inyecciones intramuscular, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal o intratumoral local. También se puede usar la vía oral, a condición de que la composición esté en una forma adecuada para administración por vía oral, capaz de proteger el principio activo de las enzimas gástricas e intestinales.

35 El término "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco solo o en combinación con otro fármaco o pauta de tratamiento eficaz para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar de algún modo y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar de algún modo y preferentemente detener) las metástasis tumorales; inhibir, de algún modo, el crecimiento tumoral; y/o aliviar de algún modo uno o más de los síntomas asociados al trastorno. Hasta el punto de que el fármaco pueda prevenir el crecimiento y/o destruir las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Para la terapia del cáncer, la eficacia *in vivo* se puede medir, por ejemplo, evaluando la duración de la supervivencia, duración de la supervivencia sin progresión (SSP), las tasas de respuesta (TR), duración de la respuesta y/o calidad de vida.

45 Los términos "terapia", "terapéutico", "tratamiento" y "tratar" se usan en el presente documento para caracterizar un método terapéutico o proceso que pretende (1) ralentizar o detener la progresión, el empeoramiento o el deterioro de los síntomas del estado de enfermedad o afección a la que se aplica dicho término; (2) aliviar o producir mejoras de los síntomas del estado de enfermedad o afección al que se aplica dicho término; y/o (3) invertir o curar el estado de enfermedad o afección al que se aplica dicho término.

50 El término "supervivencia global (SG)" se refiere al periodo durante y después del tratamiento que sobrevive el paciente. Como apreciará el experto, la supervivencia global de un paciente mejora o se potencia, si el paciente pertenece a un subgrupo de pacientes que tiene un tiempo de supervivencia media más largo estadísticamente significativo en comparación con otro subgrupo de pacientes.

5 El término "supervivencia sin progresión (SSP)" se refiere al periodo durante y después del tratamiento durante el cual, según la evaluación del médico práctico o investigador, la enfermedad del paciente no empeora, es decir, no progresa. Como apreciará el experto, la supervivencia sin progresión de un paciente mejora o se potencia si el paciente pertenece a un subgrupo de pacientes que tiene un periodo más largo durante el que la enfermedad no progresa en comparación con el tiempo de supervivencia sin progresión promedio o medio del grupo de control de pacientes en situación similar.

Un "sujeto" o un "paciente" puede ser un mamífero humano o uno no humano, tal como monos, perros, gatos, cobayas, hámsteres, conejos, vacas, caballos, cabras y ovejas.

10 El término "nivel de referencia" en el presente documento se refiere a un valor predeterminado. Como apreciará el experto, el nivel de referencia está predeterminado y establecido para cumplir los requisitos en términos de, por ejemplo, especificidad y/o sensibilidad. Estos requisitos pueden variar, por ejemplo, de organismo oficial a organismo oficial. Puede ser, por ejemplo, que la sensibilidad o especificidad del ensayo, respectivamente, se tenga que establecer hasta ciertos límites, por ejemplo 80 %, 90 % o 95 %. Estos requisitos también se pueden definir en términos de valores predictivos positivos o negativos. Sin embargo, basándose en la enseñanza dada en la presente invención, siempre será posible llegar al nivel de referencia cumpliendo los requisitos. En una realización, el nivel de referencia se determina en individuos sanos. El valor de referencia en una realización se ha predeterminado en la entidad de enfermedad a la que pertenece el paciente. En ciertas realizaciones, el nivel de referencia se puede establecer, por ejemplo, hasta cualquier porcentaje entre 25 % y 75 % de la distribución global de los valores en una entidad de enfermedad investigada. En otras realizaciones, el nivel de referencia se puede establecer, por ejemplo, en la mediana, los terciles o los cuartiles como se determina a partir de la distribución global de los valores en una entidad de enfermedad investigada. En una realización, el nivel de referencia se establece en la mediana de valor como se determina a partir de la distribución global de los valores en una entidad de enfermedad investigada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25 La Figura 1 representa curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SSP para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con VCAM-1.

La Figura 2 representa curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SG para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con VCAM-1.

La Figura 3 representa curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SSP para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con ICAM-1.

30 La Figura 4 representa curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SG para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con ICAM-1.

La Figura 5 representa curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SSP para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con VCAM-1 e ICAM-1.

35 La Figura 6 representa curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SG para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con VCAM-1 e ICAM-1.

La Figura 7 representa curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SSP para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con PIGF.

EJEMPLO: Efecto predictivo de VCAM-1, ICAM-1 y/o PIGF sobre SSP en el estudio AFLAME

ESTUDIO EFC11338 (AFLAME)

40 Se diseñó EFC11338 como un estudio multinacional, aleatorizado y de doble ciego de aflibercept frente a placebo con combinación de irinotecán/5-FU (FOLFIRI) en pacientes con cáncer colorrectal metastásico (CCRM) después del fallo de una pauta basada en oxaliplatino.

Objetivos:

45 Identificar posibles biomarcadores predictivos para la respuesta al tratamiento basándose en los criterios de valoración de la eficacia (progresión libre supervivencia (SSP), supervivencia global (SG) y tasa de respuesta global (TRG))

Identificar posibles biomarcadores de pronóstico para los criterios de valoración de la eficacia (SSP, SG y TRG)

Identificar una posible correlación entre biomarcadores y otras características basales

Identificar una posible correlación de las mediciones de plasma longitudinal con criterios de valoración clínicos

50 Identificar posibles grupos de individuos homogéneos basándose en sus perfiles moleculares en una forma no supervisada y estimar la correlación con desenlaces clínicos (SSP, SG y TRG)

Evaluar el perfil de seguridad de la población identificada por biomarcadores pronósticos / predictivos

Dosis y programa de administración:

Se administró pacientes o con aflibercept o con placebo, dependiendo del grupo asignado. Inmediatamente después, los pacientes recibieron irinotecán, 5-FU y leucovorina (pauta FOLFIRI). Este tratamiento se repitió cada 2 semanas.

5 Aflibercept/placebo

Grupo A, aflibercept: se administró IV 4 mg/kg durante 1 hora en el día 1, cada 2 semanas,

O

Grupo B, placebo: se administró IV 4 mg/kg durante 1 hora en el día 1, cada 2 semanas.

Pauta FOLFIRI

10 Inmediatamente después de la administración de aflibercept/placebo, todos los pacientes recibieron:

- Irinotecán 180 mg/m² infusión IV en 500 mL de disolución glucosada al D5W durante 90 minutos y dl-leucovorina* 400 mg/m² infusión IV durante 2 horas, a la vez, en bolsas usando una línea en Y, seguido por:

- 5-FU 400 mg/m² bolo IV administrado durante 2-4 minutos, seguido por:

15 - 5-FU 2400 mg/m² infusión IV continua en 500 mL de disolución glucosada al D5W (recomendada) durante 46-horas.

Duración del tratamiento:

Se trató el paciente hasta la progresión de la enfermedad, toxicidad inaceptable o rechazo del paciente

Duración de la observación:

20 Se siguió a los pacientes cuando estaban con el tratamiento del estudio y durante el periodo de seguimiento hasta la muerte o la fecha límite del estudio para SG, sea cual fuera primero. La fecha límite para SG es un año después de que se reclutara el último paciente.

Número de sujetos:

Población por intención de tratar (IDT): 332 (109 en el grupo de placebo + 223 en el grupo de aflibercept)

Población evaluable para la tasa de respuesta: 295 (96 en el grupo de placebo + 199 en el grupo de aflibercept)

25 Evaluable para biomarcadores de Luminex - biomarcadores del grupo 1: 295 (99 en el grupo de placebo + 196 en el grupo de aflibercept)

Evaluable para biomarcadores de Luminex - biomarcadores del grupo 2: 108 (37 en el grupo de placebo + 71 en el grupo de aflibercept)

Evaluable para biomarcadores de ELISA: 329 (107 en el grupo de placebo + 222 en el grupo de aflibercept)

30 Debido a un error operacional, algunos pacientes aleatorizados al grupo de aflibercept recibieron placebo durante uno o varios ciclos de tratamiento; o viceversa. Un total de 198 pacientes recibieron al menos un kit de tratamiento erróneamente asignado.

Criterios para la evaluación:

Biomarcadores:

35 Se investigaron diferentes tipos de datos de biomarcadores en la actual propuesta de investigación aplicada en el estudio AFLAME:

- 107 factores angiogénicos de plasma y citocinas inflamatorias medidas en el nivel basal, durante y después del tratamiento (infusión de fin de ciclo 1, 48 h después de aflibercept/placebo en el ciclo 2 o 3, 30 días después de la última administración de aflibercept/placebo) con la tecnología Luminex®

40 • VEGF-A y PIGF libres medidos en muestras de plasma en el nivel basal con la tecnología ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción)

PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y ANÁLISIS

Se midieron biomarcadores del plasma o con la tecnología Luminex™ (ensayo múltiple basado en perlas) o con ELISA.

Biomarcadores de plasma medidos con la tecnología Luminex™

5 Se midieron factores angiogénicos del plasma y citocinas inflamatorias en el nivel basal antes del ciclo 1.

Treinta proteínas medidas en todas las muestras se definieron como biomarcadores del grupo 1 y 77 proteínas medidas solo para algunas muestras se definieron como biomarcadores del grupo 2. Los biomarcadores del grupo 1 fueron moléculas angiogénicas/inflamatorias y se han seleccionado basándose en el mecanismo de acción de aflibercept (inhibición de 3 factores angiogénicos y sus receptores), biomarcadores candidatos clave identificados en estudios independientes de aflibercept o bibliografía/expertos.

10

Biomarcadores del plasma medidos con ELISA

Además de los biomarcadores del plasma medidos con la tecnología Luminex™, se midieron concentraciones de VEGF-A libre y de PIGF libre de muestras de plasma basales con la tecnología ELISA.

RESULTADOS

15 Análisis monofactorial

Se probaron biomarcadores para efectos predictivos y pronósticos para SSP.

Se identificaron VCAM-1 e ICAM-1 como posiblemente predictivos con valor de p de Benjamini-Hochberg (BH) corregido $\leq 0,2$ (295 sujetos).

Entonces se definieron poblaciones sensibles y no sensibles usando VCAM-1 e ICAM-1 (valor de p de BH $\leq 0,2$).

20 Se ha identificado PIGF como posiblemente predictivo por ELISA (valor de p sin ajustar = 0,075).

Identificación de poblaciones sensibles y no sensibles con VCAM-1

Se determinó el umbral de 6,32 correspondiente a 553 ng/mL para definir poblaciones sensibles (197 individuos) y no sensibles (98 individuos), respectivamente, correspondientes a individuos con valores bajos para VCAM-1 y valores altos para VCAM-1.

25 La Figura 1 y la Figura 2 representan curvas de Kaplan-Meier para los criterios de valoración de SSP y de SG para poblaciones sensibles y no sensibles que ilustran el mejor efecto del tratamiento para el grupo de VCAM-1 bajo en comparación con el grupo de VCAM-1 alto. Para SG, además de un mejor efecto del tratamiento en comparación con el placebo, la población sensible mostró globalmente un mejor pronóstico (SG elevada para el grupo de VCAM-1 bajo en los grupos de placebo y de aflibercept).

30 La Tabla 1 muestra la tasa de respuesta para poblaciones sensibles y no sensibles por grupo de tratamiento. Hubo un aumento de la tasa de respuesta (26 %) para el tratamiento con aflibercept/fofiri en la población sensible en comparación con la población no sensible (10 %).

Tabla 1 - Tasa de respuesta para poblaciones no sensibles/sensibles definidas con VCAM-1 para SSP - datos previamente procesados - población evaluable para VCAM-1 y TR

Población	Placebo/Fofiri	Aflibercept/Fofiri
VCAM-1 sensible $\leq 6,32$ (N = 189)	3/68 (4%)	31/121 (26%)
VCAM-1 no sensible $> 6,32$ (N = 94)	1/26 (4%)	7/68 (10%)
Total	4/94 (4%)	38/189 (20%)

35

Identificación de poblaciones sensibles y no sensibles con ICAM-1

Se determinó el umbral de 5,04 correspondiente a 144 ng/mL para definir poblaciones sensibles (205 individuos) y no sensibles (90 individuos), respectivamente, correspondientes a individuos con valores bajos para ICAM-1 y valores altos para ICAM-1.

40 La Figura 3 y la Figura 4 representan curvas de Kaplan-Meier para los criterios de valoración de SSP y de SG para poblaciones sensibles y no sensibles que ilustran el mejor efecto del tratamiento para el grupo de ICAM-1 bajo en

comparación con el grupo de ICAM-1 alto. Para SG, además de un mejor efecto del tratamiento en comparación con placebo, la población sensible mostró globalmente un mejor pronóstico (elevada SG para el grupo de ICAM-1 bajo en los grupos de placebo y de aflibercept).

5 La Tabla 2 muestra la tasa de respuesta para poblaciones sensibles y no sensibles por grupo de tratamiento. Hubo un aumento de la tasa de respuesta (25 %) para el tratamiento con aflibercept/folfiri en la población sensible en comparación con la población no sensible (9 %).

Tabla 2 - Tasa de respuesta para poblaciones no sensibles/sensibles definidas con ICAM-1 para SSP - datos previamente procesados - población evaluable para ICAM-1 y TR

Población	Placebo/Folfiri	Aflibercept/Folfiri
ICAM-1 sensible \leq 5,04 (N = 197)	3/63 (5%)	33/134 (25%)
ICAM-1 no sensible $>$ 5,04 (N = 86)	1/31 (3%)	5/55 (9%)
Total	4/94 (4%)	38/189 (20%)

10 Análisis multifactorial

Se dicotomizó la puntuación predictiva multifactorial $0,089 \times \text{ICAM} - 1 + 0,17 \times \text{VCAM} - 1$ usando el cuantil 10 % a 90 % como umbral.

15 La población sensible mostró una diferencia significativa en SSP y en SG en favor de aflibercept con respecto al placebo (CRI= 0,47 para SSP y CRI = 0,66 para SG), que aumentó en comparación con la población no sensible (CRI= 0,98 para SSP y CRI = 1,04 para SG).

La mediana de la diferencia de SSP entre aflibercept y placebo fue igual a 2,59 meses en la población sensible, que mostró una diferencia mayor pero moderada en comparación con la población no sensible (0,5 meses).

20 La mediana de la diferencia de SG entre aflibercept y placebo fue igual a 3,75 meses en la población sensible, que mostró una mayor diferencia en comparación con la población no sensible (-0,39 meses). Para la población no sensible hubo una disminución en la mediana de SG para el grupo de placebo y el grupo tratado (8,90 meses y 8,51 meses) en comparación con las otras poblaciones que ilustran un posible efecto pronóstico de la puntuación multifactorial, además del efecto predictivo.

En conclusión, la población sensible mostro una disminución en el CRI en comparación con la población no sensible para SSP y SG con aumento tolerado en el término de la mediana.

25 La Figura 5 y la Figura 6 representan curvas de Kaplan-Meier para los criterios de valoración de SSP y de SG para poblaciones sensibles y no sensibles que ilustran el mejor efecto del tratamiento para el grupo de baja puntuación en comparación con el grupo de alta puntuación. Para SG, además de un mejor efecto del tratamiento en comparación con el placebo, la población sensible mostró globalmente un mejor pronóstico (aumento de SG para el grupo de baja puntuación en los brazos de placebo y de aflibercept).

30 Identificación de poblaciones sensibles y no sensibles con PIGF

Se ha determinado el umbral de 2,82 correspondiente a 17 pg/mL para definir poblaciones sensibles (230 individuos) y no sensibles (99 individuos), respectivamente, correspondientes a individuos con valores bajos para PIGF y valores altos para PIGF.

35 La Figura 7 que representa las curvas de Kaplan-Meier para el criterio de valoración de SSP para poblaciones sensibles y no sensibles definidas con PIGF ilustra la determinación del límite de PIGF para poblaciones sensibles y no sensibles.

CONCLUSIONES

- Se han identificado VCAM-1 e ICAM-1 como biomarcadores posiblemente predictivos para SSP en un marco monofactorial (valor de p no ajustado igual a 0,00017 para VCAM-1 y 0,0043 para ICAM-1).
- 5 • El tercer biomarcador que mostró ser posiblemente predictivo fue PIGF medido por ELISA (valor de p no ajustado = 0,075).
- Se ha identificado la combinación lineal de VCAM-1 e ICAM-1 como posiblemente predictiva para SSP.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> SANOFI
- 10 <120> MÉTODO DE PREDICCIÓN DEL RESULTADO DE UN TRATAMIENTO CON AFLIBERCEPT DE UN PACIENTE QUE SE SOSPECHA QUE PADECE UN CÁNCER MIDIENDO EL NIVEL DE UN BIOMARCADOR DE PLASMA
- <130> FR2015-020
- 15 <160> 4
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- 20 <211> 739
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1
- 25

ES 2 824 574 T3

Met Pro Gly Lys Met Val Val Ile Leu Gly Ala Ser Asn Ile Leu Trp
 1 5 10 15

Ile Met Phe Ala Ala Ser Gln Ala Phe Lys Ile Glu Thr Thr Pro Glu
 20 25 30

Ser Arg Tyr Leu Ala Gln Ile Gly Asp Ser Val Ser Leu Thr Cys Ser
 35 40 45

Thr Thr Gly Cys Glu Ser Pro Phe Phe Ser Trp Arg Thr Gln Ile Asp
 50 55 60

Ser Pro Leu Asn Gly Lys Val Thr Asn Glu Gly Thr Thr Ser Thr Leu
 65 70 75 80

Thr Met Asn Pro Val Ser Phe Gly Asn Glu His Ser Tyr Leu Cys Thr
 85 90 95

Ala Thr Cys Glu Ser Arg Lys Leu Glu Lys Gly Ile Gln Val Glu Ile
 100 105 110

Tyr Ser Phe Pro Lys Asp Pro Glu Ile His Leu Ser Gly Pro Leu Glu
 115 120 125

Ala Gly Lys Pro Ile Thr Val Lys Cys Ser Val Ala Asp Val Tyr Pro
 130 135 140

Phe Asp Arg Leu Glu Ile Asp Leu Leu Lys Gly Asp His Leu Met Lys
 145 150 155 160

Ser Gln Glu Phe Leu Glu Asp Ala Asp Arg Lys Ser Leu Glu Thr Lys
 165 170 175

ES 2 824 574 T3

Ser Leu Glu Val Thr Phe Thr Pro Val Ile Glu Asp Ile Gly Lys Val
 180 185 190

Leu Val Cys Arg Ala Lys Leu His Ile Asp Glu Met Asp Ser Val Pro
 195 200 205

Thr Val Arg Gln Ala Val Lys Glu Leu Gln Val Tyr Ile Ser Pro Lys
 210 215 220

Asn Thr Val Ile Ser Val Asn Pro Ser Thr Lys Leu Gln Glu Gly Gly
 225 230 235 240

Ser Val Thr Met Thr Cys Ser Ser Glu Gly Leu Pro Ala Pro Glu Ile
 245 250 255

Phe Trp Ser Lys Lys Leu Asp Asn Gly Asn Leu Gln His Leu Ser Gly
 260 265 270

Asn Ala Thr Leu Thr Leu Ile Ala Met Arg Met Glu Asp Ser Gly Ile
 275 280 285

Tyr Val Cys Glu Gly Val Asn Leu Ile Gly Lys Asn Arg Lys Glu Val
 290 295 300

Glu Leu Ile Val Gln Glu Lys Pro Phe Thr Val Glu Ile Ser Pro Gly
 305 310 315 320

Pro Arg Ile Ala Ala Gln Ile Gly Asp Ser Val Met Leu Thr Cys Ser
 325 330 335

Val Met Gly Cys Glu Ser Pro Ser Phe Ser Trp Arg Thr Gln Ile Asp
 340 345 350

Ser Pro Leu Ser Gly Lys Val Arg Ser Glu Gly Thr Asn Ser Thr Leu
 355 360 365

Thr Leu Ser Pro Val Ser Phe Glu Asn Glu His Ser Tyr Leu Cys Thr
 370 375 380

Val Thr Cys Gly His Lys Lys Leu Glu Lys Gly Ile Gln Val Glu Leu
 385 390 395 400

Tyr Ser Phe Pro Arg Asp Pro Glu Ile Glu Met Ser Gly Gly Leu Val
 405 410 415

Asn Gly Ser Ser Val Thr Val Ser Cys Lys Val Pro Ser Val Tyr Pro

ES 2 824 574 T3

Lys Val Gly Ser Gln Leu Arg Ser Leu Thr Leu Asp Val Gln Gly Arg
675 680 685

Glu Asn Asn Lys Asp Tyr Phe Ser Pro Glu Leu Leu Val Leu Tyr Phe
690 695 700

Ala Ser Ser Leu Ile Ile Pro Ala Ile Gly Met Ile Ile Tyr Phe Ala
705 710 715 720

Arg Lys Ala Asn Met Lys Gly Ser Tyr Ser Leu Val Glu Ala Gln Lys
725 730 735

Ser Lys Val

<210> 2

<211> 532

5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala Pro Ser Ser Pro Arg Pro Ala Leu Pro Ala Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Leu Gly Ala Leu Phe Pro Gly Pro Gly Asn Ala Gln Thr Ser Val Ser
20 25 30

Pro Ser Lys Val Ile Leu Pro Arg Gly Gly Ser Val Leu Val Thr Cys
35 40 45

Ser Thr Ser Cys Asp Gln Pro Lys Leu Leu Gly Ile Glu Thr Pro Leu
50 55 60

Pro Lys Lys Glu Leu Leu Leu Pro Gly Asn Asn Arg Lys Val Tyr Glu
65 70 75 80

Leu Ser Asn Val Gln Glu Asp Ser Gln Pro Met Cys Tyr Ser Asn Cys
85 90 95

Pro Asp Gly Gln Ser Thr Ala Lys Thr Phe Leu Thr Val Tyr Trp Thr
100 105 110

Pro Glu Arg Val Glu Leu Ala Pro Leu Pro Ser Trp Gln Pro Val Gly
115 120 125

Lys Asn Leu Thr Leu Arg Cys Gln Val Glu Gly Gly Ala Pro Arg Ala
130 135 140

ES 2 824 574 T3

Asn Leu Thr Val Val Leu Leu Arg Gly Glu Lys Glu Leu Lys Arg Glu
 145 150 155 160

Pro Ala Val Gly Glu Pro Ala Glu Val Thr Thr Thr Val Leu Val Arg
 165 170 175

Arg Asp His His Gly Ala Asn Phe Ser Cys Arg Thr Glu Leu Asp Leu
 180 185 190

Arg Pro Gln Gly Leu Glu Leu Phe Glu Asn Thr Ser Ala Pro Tyr Gln
 195 200 205

Leu Gln Thr Phe Val Leu Pro Ala Thr Pro Pro Gln Leu Val Ser Pro
 210 215 220

Arg Val Leu Glu Val Asp Thr Gln Gly Thr Val Val Cys Ser Leu Asp
 225 230 235 240

Gly Leu Phe Pro Val Ser Glu Ala Gln Val His Leu Ala Leu Gly Asp
 245 250 255

Gln Arg Leu Asn Pro Thr Val Thr Tyr Gly Asn Asp Ser Phe Ser Ala
 260 265 270

Lys Ala Ser Val Ser Val Thr Ala Glu Asp Glu Gly Thr Gln Arg Leu
 275 280 285

Thr Cys Ala Val Ile Leu Gly Asn Gln Ser Gln Glu Thr Leu Gln Thr
 290 295 300

Val Thr Ile Tyr Ser Phe Pro Ala Pro Asn Val Ile Leu Thr Lys Pro
 305 310 315 320

Glu Val Ser Glu Gly Thr Glu Val Thr Val Lys Cys Glu Ala His Pro
 325 330 335

Arg Ala Lys Val Thr Leu Asn Gly Val Pro Ala Gln Pro Leu Gly Pro
 340 345 350

Arg Ala Gln Leu Leu Leu Lys Ala Thr Pro Glu Asp Asn Gly Arg Ser
 355 360 365

Phe Ser Cys Ser Ala Thr Leu Glu Val Ala Gly Gln Leu Ile His Lys
 370 375 380

Asn Gln Thr Arg Glu Leu Arg Val Leu Tyr Gly Pro Arg Leu Asp Glu
 385 390 395 400

ES 2 824 574 T3

Arg Asp Cys Pro Gly Asn Trp Thr Trp Pro Glu Asn Ser Gln Gln Thr
 405 410 415

Pro Met Cys Gln Ala Trp Gly Asn Pro Leu Pro Glu Leu Lys Cys Leu
 420 425 430

Lys Asp Gly Thr Phe Pro Leu Pro Ile Gly Glu Ser Val Thr Val Thr
 435 440 445

Arg Asp Leu Glu Gly Thr Tyr Leu Cys Arg Ala Arg Ser Thr Gln Gly
 450 455 460

Glu Val Thr Arg Lys Val Thr Val Asn Val Leu Ser Pro Arg Tyr Glu
 465 470 475 480

Ile Val Ile Ile Thr Val Val Ala Ala Ala Val Ile Met Gly Thr Ala
 485 490 495

Gly Leu Ser Thr Tyr Leu Tyr Asn Arg Gln Arg Lys Ile Lys Lys Tyr
 500 505 510

Arg Leu Gln Gln Ala Gln Lys Gly Thr Pro Met Lys Pro Asn Thr Gln
 515 520 525

Ala Thr Pro Pro
 530

<210> 3

<211> 170

5 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Pro Val Met Arg Leu Phe Pro Cys Phe Leu Gln Leu Leu Ala Gly
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Pro Ala Val Pro Pro Gln Gln Trp Ala Leu Ser Ala Gly
 20 25 30

Asn Gly Ser Ser Glu Val Glu Val Val Pro Phe Gln Glu Val Trp Gly
 35 40 45

Arg Ser Tyr Cys Arg Ala Leu Glu Arg Leu Val Asp Val Val Ser Glu
 50 55 60

Tyr Pro Ser Glu Val Glu His Met Phe Ser Pro Ser Cys Val Ser Leu
 65 70 75 80

ES 2 824 574 T3

Leu Arg Cys Thr Gly Cys Cys Gly Asp Glu Asn Leu His Cys Val Pro
 85 90 95

Val Glu Thr Ala Asn Val Thr Met Gln Leu Leu Lys Ile Arg Ser Gly
 100 105 110

Asp Arg Pro Ser Tyr Val Glu Leu Thr Phe Ser Gln His Val Arg Cys
 115 120 125

Glu Cys Arg Pro Leu Arg Glu Lys Met Lys Pro Glu Arg Arg Arg Pro
 130 135 140

Lys Gly Arg Gly Lys Arg Arg Arg Glu Lys Gln Arg Pro Thr Asp Cys
 145 150 155 160

His Leu Cys Gly Asp Ala Val Pro Arg Arg
 165 170

<210> 4

<211> 149

5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Pro Val Met Arg Leu Phe Pro Cys Phe Leu Gln Leu Leu Ala Gly
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Pro Ala Val Pro Pro Gln Gln Trp Ala Leu Ser Ala Gly
 20 25 30

Asn Gly Ser Ser Glu Val Glu Val Val Pro Phe Gln Glu Val Trp Gly
 35 40 45

Arg Ser Tyr Cys Arg Ala Leu Glu Arg Leu Val Asp Val Val Ser Glu
 50 55 60

Tyr Pro Ser Glu Val Glu His Met Phe Ser Pro Ser Cys Val Ser Leu
 65 70 75 80

Leu Arg Cys Thr Gly Cys Cys Gly Asp Glu Asn Leu His Cys Val Pro
 85 90 95

Val Glu Thr Ala Asn Val Thr Met Gln Leu Leu Lys Ile Arg Ser Gly
 100 105 110

Asp Arg Pro Ser Tyr Val Glu Leu Thr Phe Ser Gln His Val Arg Cys
 115 120 125

ES 2 824 574 T3

Glu Cys Arg Pro Leu Arg Glu Lys Met Lys Pro Glu Arg Cys Gly Asp
130 135 140

Ala Val Pro Arg Arg
145

REIVINDICACIONES

1. Uso *in vitro* de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en VCAM-1 e ICAM-1 para predecir el resultado del tratamiento con aflibercept, de un paciente que se sospecha que padece un cáncer.
- 5 2. Un método de determinación de si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept para dicho cáncer, que comprende la etapa de someter una muestra biológica del paciente a al menos un ensayo para medir en el nivel basal el nivel de un biomarcador VCAM-1 o ICAM-1, en donde cuando el nivel de biomarcador en la muestra biológica es bajo con respecto a un nivel de referencia de expresión del biomarcador, se identifica que el paciente es un candidato a terapia para el cáncer.
- 10 3. Un método de determinación de si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept para dicho cáncer, que comprende la etapa de someter una muestra biológica del paciente a al menos un ensayo para medir en el nivel basal el nivel de un biomarcador VCAM-1 o ICAM-1, en donde cuando el nivel de biomarcador en la muestra biológica es alto con respecto a un nivel de referencia de expresión del biomarcador, se identifica que el paciente no es un candidato a terapia para el cáncer.
- 15 4. Un método de determinación de si un paciente que se sospecha que padece cáncer es un candidato a terapia con aflibercept para dicho cáncer, que comprende la etapa de someter una muestra biológica del paciente a al menos un ensayo para medir en el nivel basal los niveles respectivos de VCAM-1 e ICAM-1, en donde cuando los niveles de VCAM-1 e ICAM-1 de la muestra biológica son bajos con respecto a los niveles de referencia de expresión de VCAM-1 e ICAM-1, identifica que el paciente es un candidato a terapia para el cáncer.
- 20 5. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el nivel de referencia de expresión de VCAM-1 es entre aproximadamente 406 ng/mL y aproximadamente 577 ng/mL.
6. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el nivel de referencia de expresión de VCAM-1 es aproximadamente 553 ng/mL.
7. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el nivel de referencia de expresión de ICAM-1 es entre aproximadamente 92 ng/mL y aproximadamente 145 ng/mL.
- 25 8. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el nivel de referencia de expresión de ICAM-1 es aproximadamente 144 ng/mL.
9. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en donde la muestra biológica se elige del grupo que consiste en sangre, suero y plasma.
- 30 10. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en donde el cáncer es un cáncer de colon, un cáncer colorrectal o un cáncer rectal.
11. Un método según la reivindicación 10, en donde el cáncer colorrectal es un cáncer colorrectal metastásico.
12. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, en donde el nivel de VCAM-1 y/o ICAM-1 se determina en el nivel de circulación.
- 35 13. Aflibercept, para su uso en el tratamiento de un paciente que se sospecha que padece un cáncer, en donde se ha identificado que el paciente tiene un bajo nivel de un biomarcador VCAM-1 o ICAM-1 en una muestra biológica en comparación con el nivel de referencia de expresión del biomarcador.
- 40 14. Combinación que comprende aflibercept, ácido folínico, 5-fluorouracilo (5-FU) e irinotecán para su uso en el tratamiento de un paciente que se sospecha que padece un cáncer, en donde se ha identificado que el paciente tiene un bajo nivel de un biomarcador VCAM-1 o ICAM-1 en una muestra biológica en comparación con el nivel de referencia de expresión del biomarcador.
15. Combinación que comprende aflibercept, ácido folínico, 5-fluorouracilo (5-FU) e irinotecán para su uso según la reivindicación 14, en donde el sujeto se trata con aflibercept y recibe además un tratamiento quimioterapéutico con ácido folínico, 5-fluorouracilo e irinotecán.
- 45 16. Aflibercept o combinación que comprende aflibercept, ácido folínico, 5-fluorouracilo (5-FU) e irinotecán para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, en donde el nivel de referencia de expresión de VCAM-1 es entre aproximadamente 406 ng/mL y aproximadamente 577 ng/mL.
17. Aflibercept o combinación que comprende aflibercept, ácido folínico, 5-fluorouracilo (5-FU) e irinotecán para su uso según las reivindicaciones 13 o 15, en donde el nivel de referencia de expresión de ICAM-1 es entre aproximadamente 92 ng/mL y aproximadamente 145 ng/mL.

18. Aflibercept o combinación que comprende aflibercept, ácido folínico, 5-fluorouracilo (5-FU) e irinotecán para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17, en donde el cáncer es un cáncer de colon, un cáncer colorrectal o un cáncer rectal.

5 19. Aflibercept o combinación que comprende aflibercept, ácido folínico, 5-fluorouracilo (5-FU) e irinotecán para su uso según la reivindicación 18, en donde el cáncer colorrectal es un cáncer colorrectal metastásico.

FIG.1

Modelo global (CRI=0,59, p=0,00021)

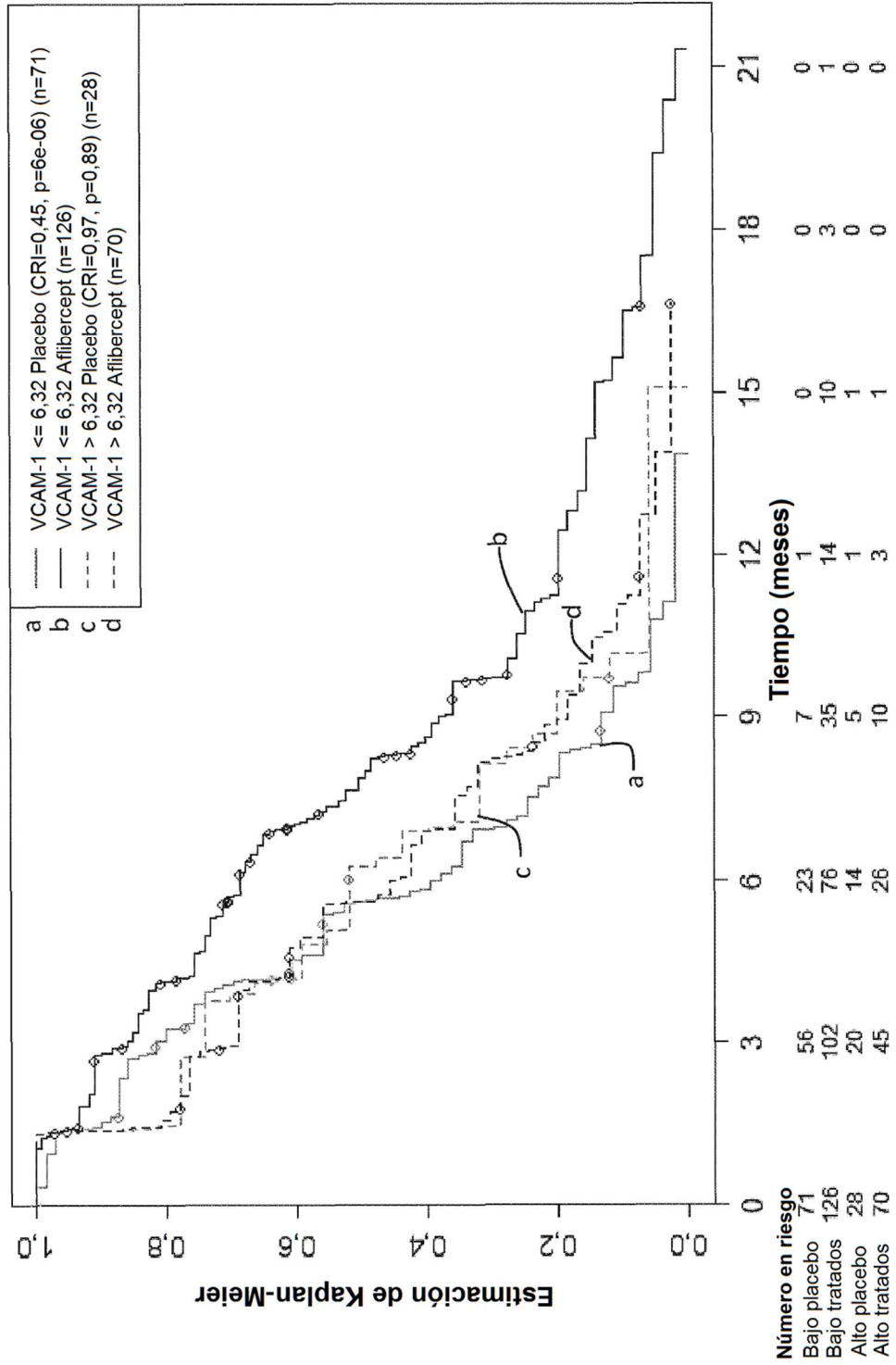
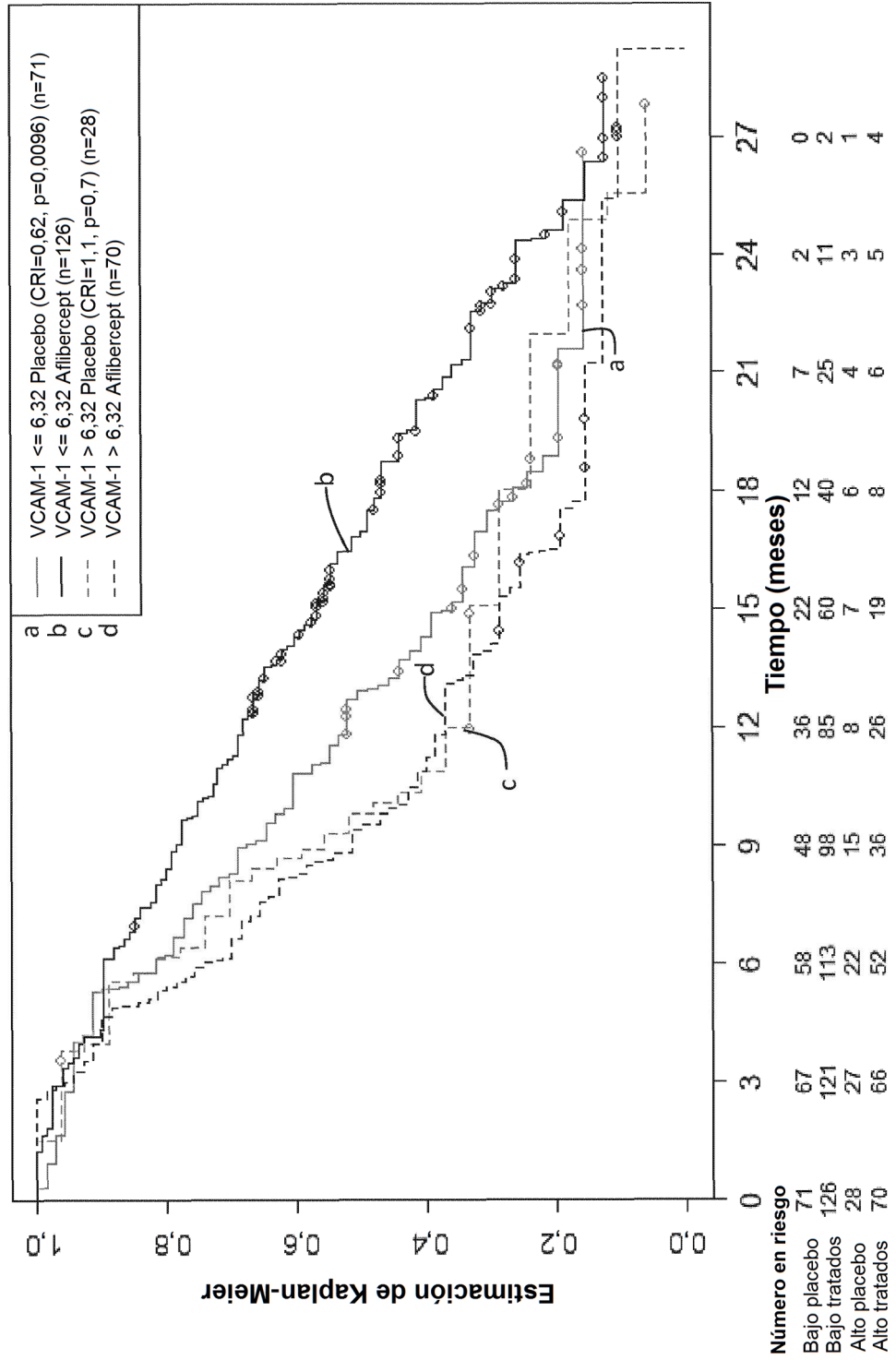
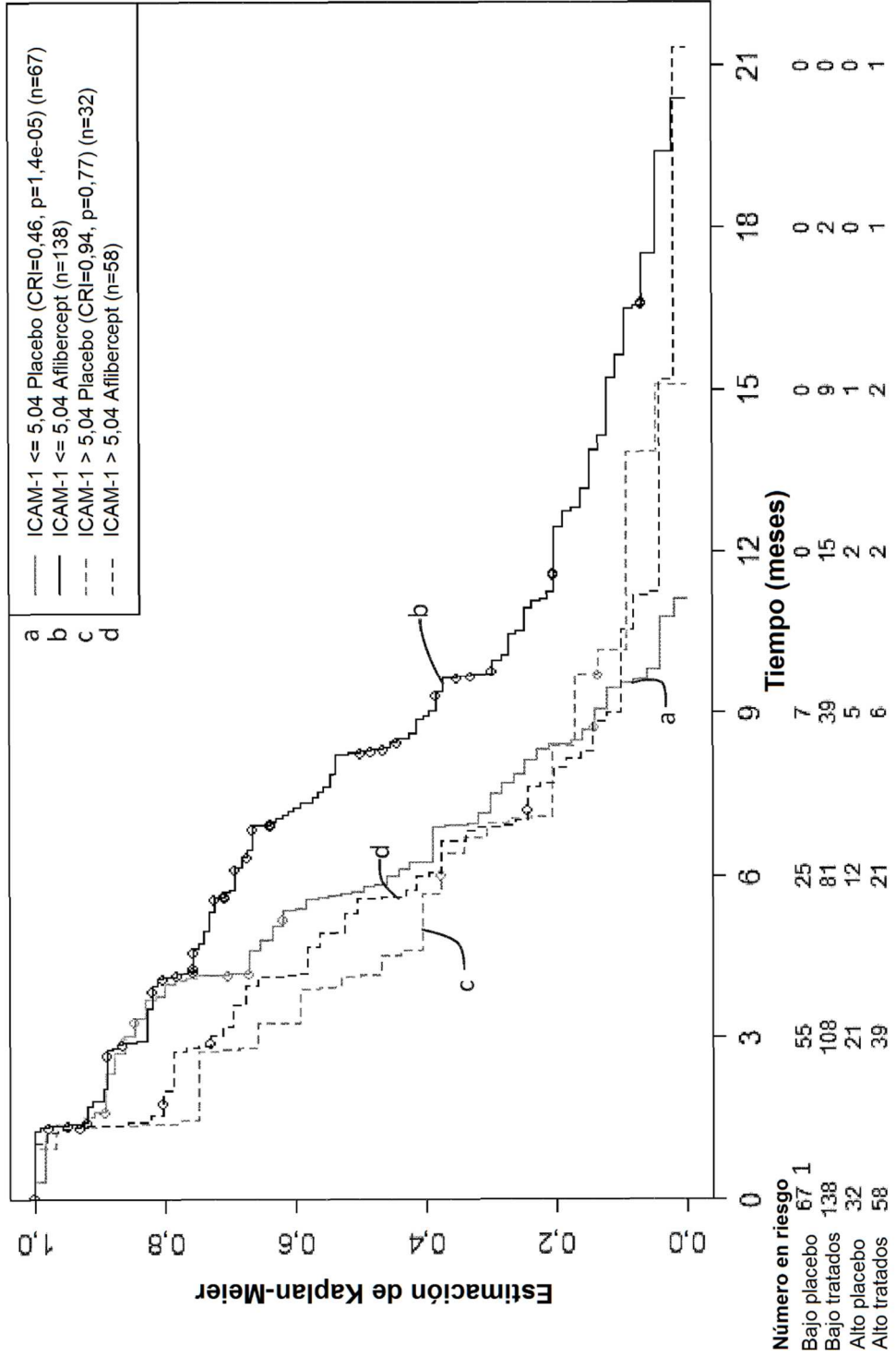


FIG.2

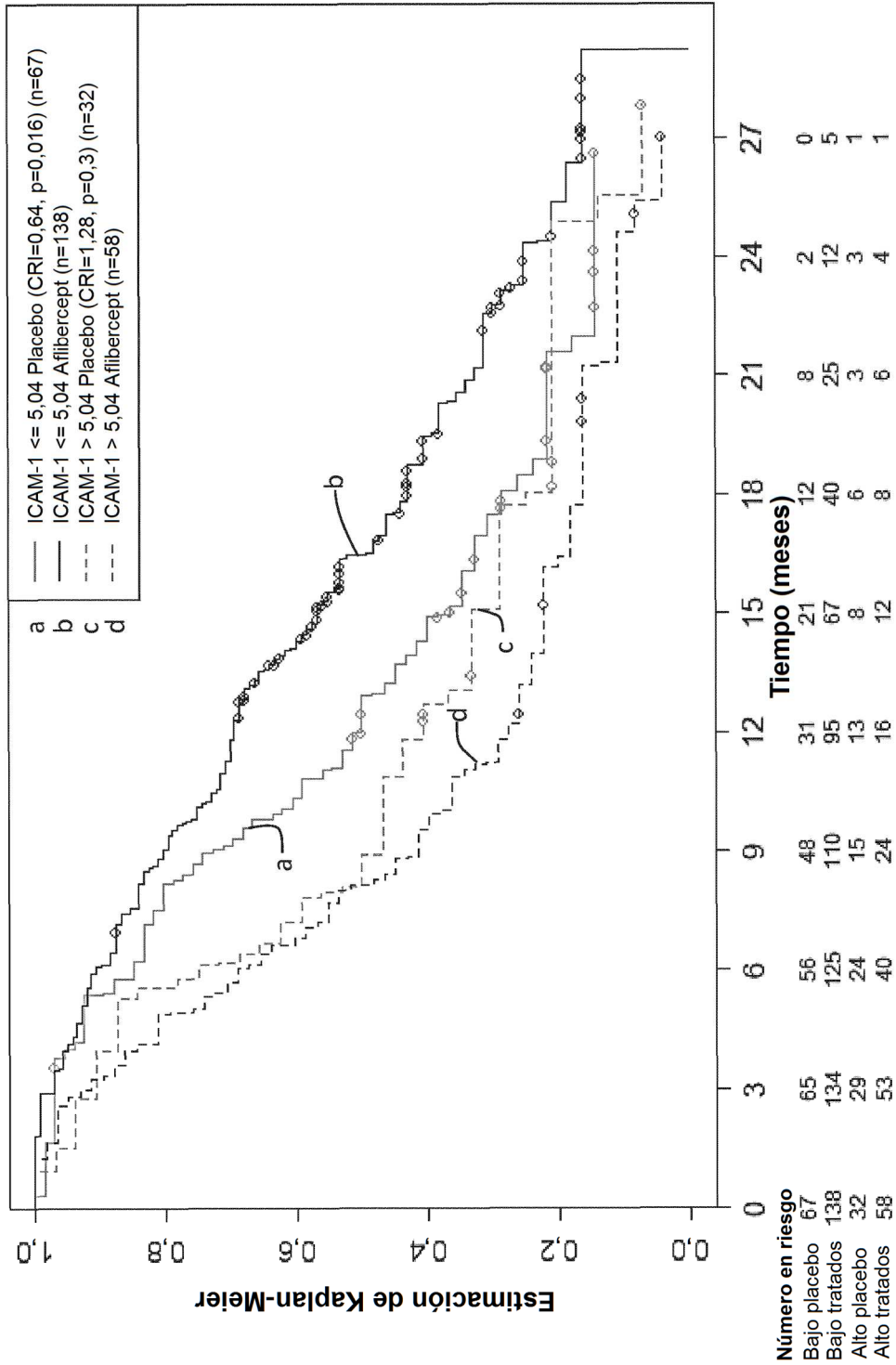
Modelo global (CRI=0,79, p=0,11)



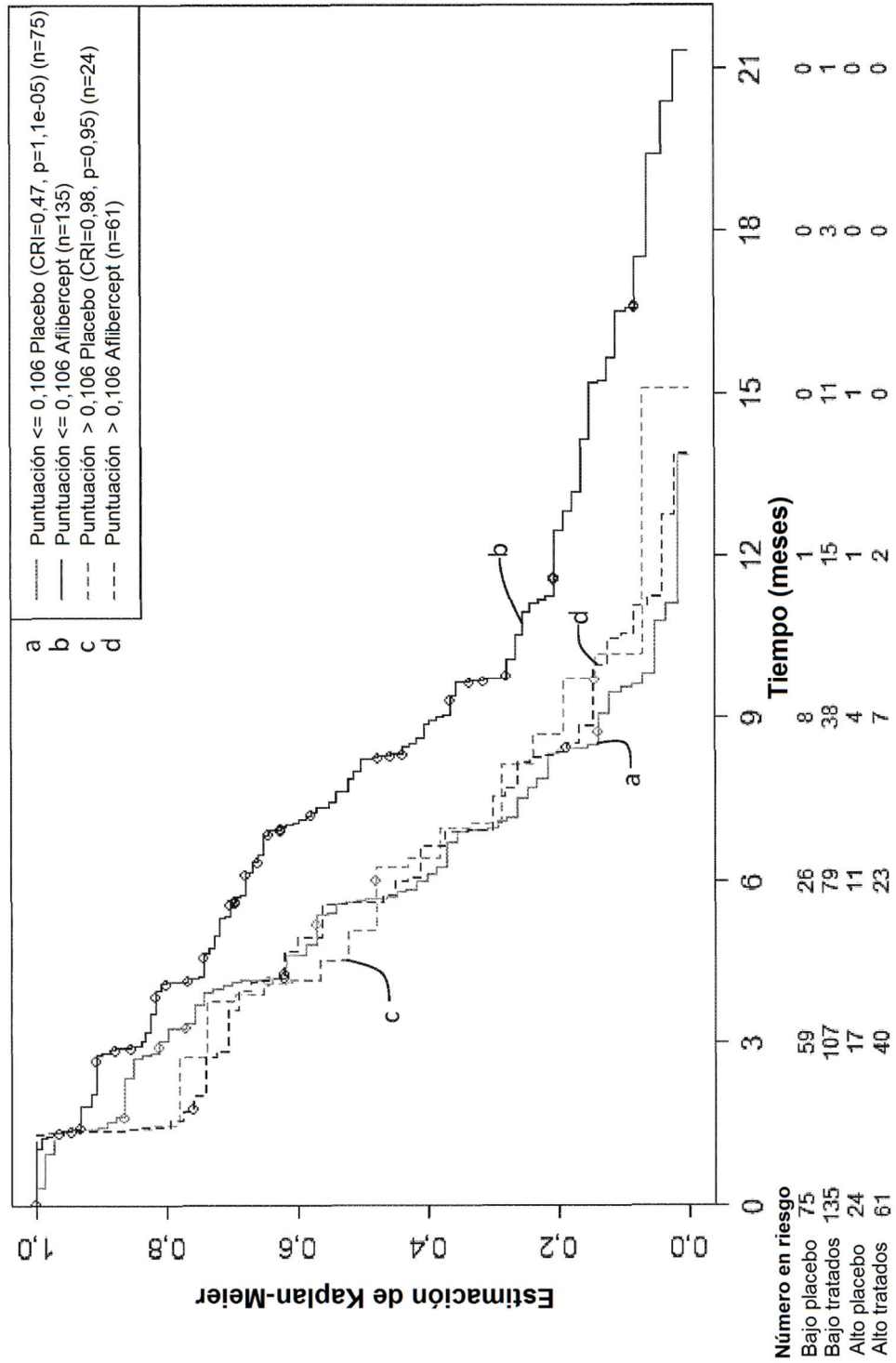
Modelo global (CRI=0,59, p=0,00021) **FIG.3**



Modelo global (CRI=0,79, p=0,11) FIG.4



Modelo global (CRI=0,59, p=0,00016) - ajustado para factores pronósticos FIG.5



Modelo global (CRI=0,77, p=0,074) - ajustado para factores pronósticos **FIG.6**

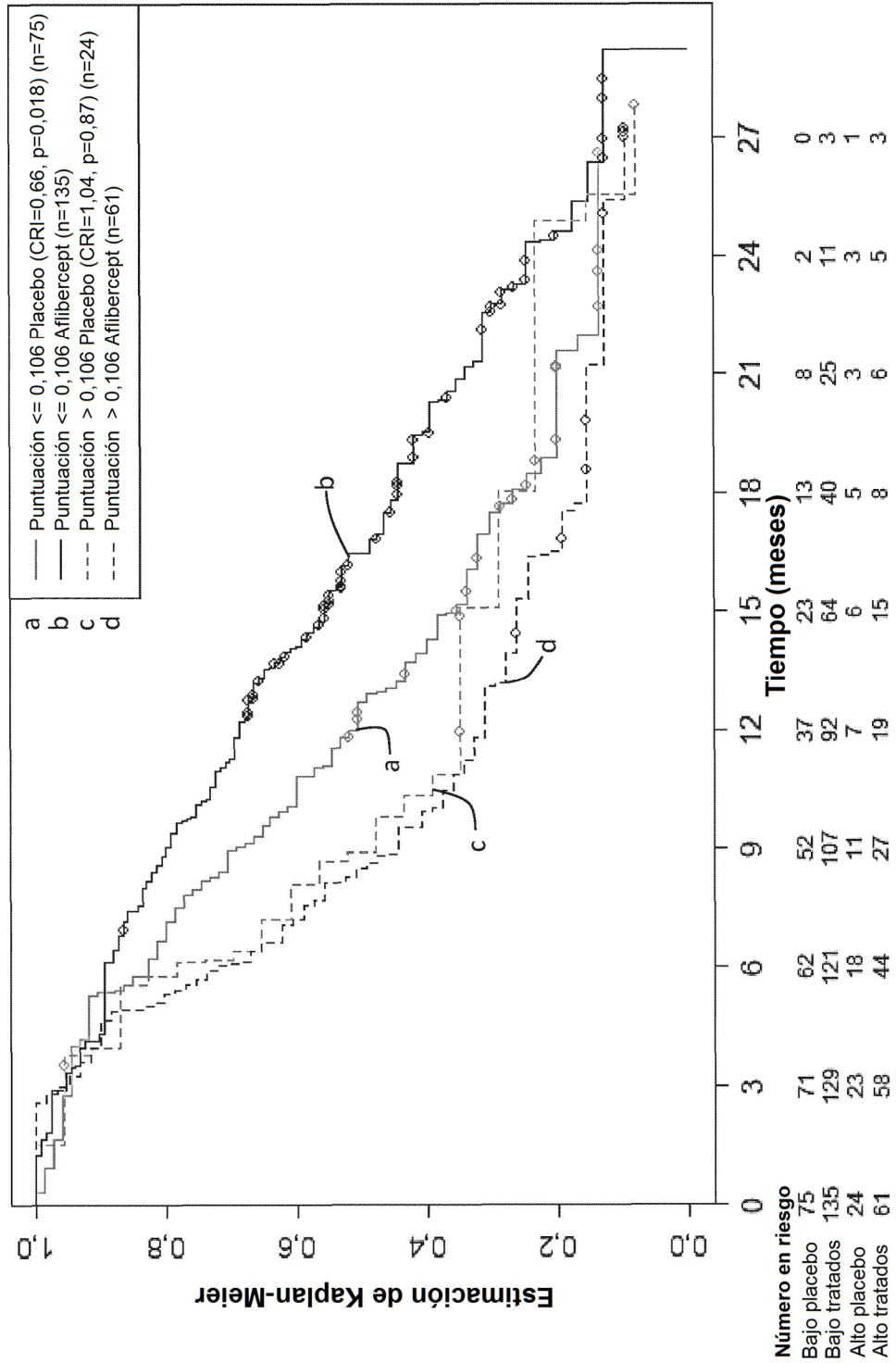


FIG. 7

Modelo global (CRI=0,62, p=0,00037)

