

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 010 637**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28	(2006.01)
C07K 16/30	(2006.01)
C07K 16/46	(2006.01)
A61P 35/02	(2006.01)
A61K 39/00	(2006.01)
A61P 37/06	(2006.01)
A61P 43/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.05.2016 PCT/EP2016/061179**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **24.11.2016 WO16184931**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2016 E 16728620 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2024 EP 3298042**

54 Título: **Disminución de células B como marcador diagnóstico**

30 Prioridad:

20.05.2015 US 201562164278 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.04.2025

73 Titular/es:

**AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH (100.00%)
Staffelseestrasse 2
81477 München, DE**

72 Inventor/es:

**KLINGER, MATTHIAS y
ZUGMAIER, GERHARD**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 3 010 637 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

Disminución de células B como marcador diagnóstico

5 ANTECEDENTES

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una neoplasia maligna progresiva de los órganos hematopoyéticos, caracterizada típicamente por grandes cantidades de células hematopoyéticas inmaduras (particularmente linfoblastos) en la médula ósea, la sangre circulante, los ganglios linfáticos, el bazo, el hígado, y otros órganos. Durante la progresión de la enfermedad, los linfoblastos se acumulan en la médula ósea y finalmente reemplazan la mayoría de las células hematopoyéticas normales, lo que produce anemia y una mayor susceptibilidad a infecciones y hemorragias. Otros síntomas típicos incluyen fiebre, dolor en las articulaciones y los huesos, e hinchazón de los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado. La incidencia total de LLA es de 1,1/100.000 por año. La incidencia tiene su pico durante la infancia, disminuyendo continuamente con el aumento de la edad. A partir de los 35 años la incidencia vuelve a aumentar y se observa un segundo pico a partir de los 80 años (2,3/100.000 por año) (Hoelzer y Gökbuget; Der Onkologe 12 (2006); 983-1002). Aunque la etiología de la LLA aún está por dilucidar, es una de las neoplasias más estudiadas y mejor caracterizadas. Los subgrupos de LLA se definen principalmente por inmunofenotipificación, citogenética y genética molecular. La leucemia linfoblástica aguda de linaje B (LLA), con un 74% de los casos, comprende la mayoría de las LLA. El setenta por ciento de todas las leucemias linfoblásticas agudas son leucemias linfoblásticas agudas de precursores B, y el 4% son leucemias linfoblásticas agudas de células B maduras. Las leucemias linfoblásticas agudas de linaje T cubren el 26% de todas las leucemias linfoblásticas agudas (Hoelzer y Gökbuget; Der Onkologe 12 (2006); 983-1002).

A principios de la década de 1980, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) en adultos era una enfermedad rara vez curable, con una supervivencia general de menos del 10%. En los últimos años se han producido avances en el diagnóstico molecular de la LLA. El trasplante de células madre ha mejorado el pronóstico de la leucemia linfoblástica aguda y ha hecho que el tratamiento sea más factible. Aunque se están evaluando diversos nuevos medicamentos dirigidos, aún no se dispone de terapias dirigidas efectivas para la LLA. Una revisión exhaustiva encontró que, aunque los niños podían obtener tasas de remisión de hasta el 100%, la supervivencia libre de enfermedad a los diez años era del 63% para los niños y del 25-35% para los adultos (Redaelli et al. Eur J Cancer Care (Engl). 2005 Mar;14(1):53-62). El diagnóstico y la clasificación rápidos de la LLA son cada vez más importantes para identificar subconjuntos genéticos moleculares y pronósticos que serán el foco del tratamiento dirigido (Hoelzer y Gökbuget; Hematology (2006); 133-141).

Hoy en día, el tratamiento de LLA normalmente se lleva a cabo en tres fases: inducción (o inducción de la remisión), consolidación (intensificación), y mantenimiento, e implica el uso a largo plazo de quimioterapia. El tratamiento total suele durar alrededor de 2 años, siendo la fase de mantenimiento la que ocupa la mayor parte de este tiempo. En los últimos años se han utilizado regímenes de quimioterapia más intensivos, que han producido mejores respuestas al tratamiento. Pero estos regímenes también tienen más probabilidades de causar efectos secundarios, tales como recuentos bajos de glóbulos blancos, que a su vez requieren la administración de otros medicamentos que ayudan a prevenir o tratar estos efectos secundarios. Una parte importante del tratamiento de LLA es la profilaxis del sistema nervioso central (SNC), un tratamiento cuyo objetivo es garantizar que la leucemia no se propague al cerebro o la médula espinal. Zugmaier Gerhard et al., Blood, vol. 124, no. 21, diciembre 2014 (2014-12), XP009191500, & 56th Annual Meeting of the American-Society-of-Hematology; San Francisco, CA, USA; diciembre 06-09, 2014 describen la supervivencia a largo plazo en pacientes adultos con leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores b recidivante/refractaria que alcanzaron una respuesta de enfermedad residual mínima (MRD) después del tratamiento con blinatumomab BITE® anti-CD19.

Las tasas de supervivencia con protocolos de tratamiento modernos para pacientes con LLA han llegado a un punto en el que el beneficio potencial de regímenes quimioterapéuticos más agresivos a menudo se ve contrarrestado por un exceso de mortalidad debido a complicaciones, lo que hace que los esfuerzos por individualizar el tratamiento sean aún más importantes. Esto demuestra que la leucemia linfoblástica aguda (LLA) sigue siendo para la mayoría de los pacientes una enfermedad fulminante e incurable. En vista de lo anterior, existe una necesidad urgente de mejorar las terapias para la LLA.

55 SUMARIO

Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento según la invención se refiere a un agente de disminución de células B como se define en las reivindicaciones para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano mediante terapia.

La presente invención se refiere a métodos y usos para el tratamiento de LLA que implican la administración de un agente de disminución de células B. También se prevén usos y métodos para conservar o aumentar el número de supervivientes a largo plazo de la LLA. Los usos y métodos proporcionados aquí implican el número de células B en

la sangre de un paciente (o grupo de pacientes) que permanece o disminuye por debajo de una célula B/ml de suero dentro de un período de tiempo predefinido.

5 La presente invención se refiere a un agente de disminución de células B capaz de reducir las células B CD19+ periféricas para uso en un método de conservación o aumento del número de supervivientes a largo plazo en un grupo de pacientes que padecen leucemia linfoblástica aguda de precursores B (LLA) recidivante/refractaria en adultos. El método comprende la etapa de administrar un (cantidad terapéuticamente eficaz de) agente de disminución de células B a dichos pacientes, (b) observar dentro de un primer período de tiempo predefinido que comienza con el primer día de tratamiento inicial con el agente de disminución de células B el número de células B en la sangre de dicho paciente, 10 y (c) ajustar el régimen de tratamiento o la dosis de dicho agente de disminución de células B de tal manera que el número de células B en la sangre de (preferiblemente todos) los pacientes de dicho grupo caiga por debajo de una célula B/ml de suero dentro de un período de tiempo predefinido de 8 días después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B, en lo sucesivo denominado segundo período de tiempo predefinido, en el que el primer período de tiempo predefinido es más corto que el segundo período de tiempo predefinido, en el que dicho agente de disminución de células B es Blinatumomab y dichos supervivientes a largo plazo están vivos durante ≥ 30 15 meses después de iniciar el tratamiento con Blinatumomab.

Se debe tener en cuenta que, como se utilizan aquí, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "un reactivo" incluye uno o más de dichos reactivos diferentes y la referencia al "método" incluye una referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica que podrían modificarse o sustituirse por los métodos descritos en esta memoria. 20

A menos que se indique lo contrario, la expresión "al menos" antes de una serie de elementos debe entenderse que se refiere a cada elemento en la serie. 25

El término "y/o", dondequiera que se utilice aquí, incluye el significado de "y", "o" y "todos o cualquier otra combinación de los elementos conectados por dicho término".

30 El término "alrededor de" o "aproximadamente", como se utiliza aquí, significa dentro del 20%, preferiblemente dentro del 10%, y más preferiblemente dentro del 5% de un valor o intervalo dado. Incluye, sin embargo, también el número concreto, por ejemplo, aproximadamente 20 incluye 20.

35 La expresión "menor que" o "mayor que" incluye el número concreto. Por ejemplo, menos de 20 significa inferior o igual a. Similarmente, mayor de o superior a significa mayor de o igual a, o superior o igual a, respectivamente.

A lo largo de esta memoria descriptiva y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, la palabra "comprender", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderán como que implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas indicados, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas. Cuando se utiliza en esta memoria, la expresión "que comprende" puede sustituirse con la expresión "que contiene" o "que incluye" o, a veces, cuando se utiliza en esta memoria, con la expresión "que tiene". 40

45 Cuando se utiliza aquí, "que consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en el elemento de la reivindicación. Cuando se utiliza en esta memoria, "que consiste esencialmente en" no excluye materiales o etapas que no afecten materialmente a las características básicas y novedosas de la reivindicación.

50 En cada caso, cualquiera de las expresiones "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" puede reemplazarse por cualquiera de las otras dos expresiones.

55 Debe entenderse que esta invención no está limitada a la metodología, protocolos, materiales, reactivos, y sustancias, etc., particulares descritos aquí, y como tal, puede variar. La terminología utilizada aquí tiene únicamente el propósito de describir realizaciones particulares y no pretende limitar el alcance de la presente invención, que se define únicamente por las reivindicaciones.

DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

60 Figura 1. Supervivencia libre de recaídas y supervivencia general (A) Supervivencia libre de recaídas (RFS) en toda la población de pacientes del estudio (N = 36) en una mediana de seguimiento de 28,9 meses. (B) Supervivencia general con y sin censura por enfermedad residual mínima en toda la población de pacientes (N = 36) en una mediana de seguimiento de 32,6 meses.

65 Figura 2. Supervivencia global mediante trasplante alogénico de células madre previo. Supervivencia global en toda la población de pacientes del estudio (N = 36) con y sin trasplante alogénico de células madre previo en una mediana de seguimiento de 32,6 meses.

Figura 3. Cinética de células T y células B. Cinética de células T y células B durante el ciclo 1 (días 1 a 29) y el ciclo 2 (días 43 a 71) del tratamiento con blinatumomab. (A) Expansión de células T CD3⁺. (B) Expansión de células T_{EM} CD3⁺. (C) Cinética de reducción de células B CD19⁺. Por claridad, no se muestra la redistribución inicial de células T durante la primera semana de tratamiento de los ciclos 1 y 2. Los pacientes se agruparon según la supervivencia general. Se representan gráficamente los valores celulares medios (\pm SEM) para cada uno de los siguientes grupos: SG < 30 meses; SG \geq 30 meses; SG \geq 30 meses sin tratamiento adicional posterior a blinatumomab. SG, supervivencia global.

Figura 4. Mecanismo de acción propuesto de blinatumomab.

Figura 5. Esquema del estudio de fase 2 de blinatumomab.

Figura 6. Esquema de dosificación de blinatumomab.

Figura 7. Covariables evaluadas.

Figura 8. Farmacocinética de blinatumomab. La concentración sérica de blinatumomab se midió en todos los pacientes al inicio del tratamiento y a intervalos regulares durante los dos primeros ciclos de tratamiento. Las concentraciones de blinatumomab se determinaron utilizando un bioensayo validado.

Figura 9. Farmacodinámica. Se midieron los subconjuntos de linfocitos (por ejemplo, células B CD19⁺, células T CD3⁺) en i) un subgrupo de pacientes (n = 46): muestras recolectadas en la selección y durante los primeros dos ciclos de tratamiento, ii) en los pacientes restantes: muestras recolectadas en la selección y 6 meses después del inicio del tratamiento. Los subconjuntos de linfocitos se midieron mediante citometría de flujo. A: Perfiles de tiempo de células T CD3⁺ en el ciclo 1. B: Perfiles de tiempo de células B CD19⁺ en el ciclo 1.

Figura 10. Perfiles de citocinas. Se determinaron los niveles séricos de citocinas de TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IFN- γ . Las citocinas se cuantificaron con un ensayo validado basado en FACS.

Figura 11. Subconjuntos de linfocitos/leucocitos y CR/CRh.

Figura 12. Exposición a blinatumomab y CR/CRh

Figura 13. Exposición a blinatumomab y tiempo hasta CD/CRh.

Figura 14. Exposición a blinatumomab y tiempo hasta el primer evento neurológico.

Figura 15. Exposición a blinatumomab y síndrome de liberación de citocinas (CRS).

Figura 16. Niveles máximos de IL10 e IL6 en pacientes con o sin síndrome de liberación de citocinas (CRS).

DESCRIPCION DETALLADA

Los presentes inventores han descubierto una correlación entre la disminución de células B (periféricas) dentro de un período de tiempo definido (8 días) y la supervivencia durante \geq alrededor de 29 meses en pacientes con LLA tratados con el agente de disminución de células B blinatumomab. Por el contrario, los presentes inventores observaron que en pacientes en los que la disminución de células B tardó 22 días y no se mantuvo, los pacientes probablemente morirían en < alrededor de 29 meses. Por lo tanto, los presentes inventores concluyeron que cuando se puede lograr con éxito la disminución de células B en un paciente (o grupo de pacientes) dentro de un período de tiempo específico, es probable que el paciente (o grupo de pacientes) sea un superviviente a largo plazo de LLA y/o responda favorablemente al tratamiento posterior de LLA. Sin querer estar limitador por la teoría, se especula que la correlación observada podría atribuirse a una expansión de la población de células T y/o TEM en pacientes que muestran una eliminación de células B (periféricas), lo que puede mejorar aún más el tratamiento posterior de LLA a través de la actividad anticancerígena mediada por células T. Por lo tanto, los medios y métodos proporcionados aquí permiten al médico experto evaluar rápidamente la probabilidad de un resultado beneficioso del tratamiento con un agente de disminución de células B determinado, y por lo tanto reducir la administración de agentes para el tratamiento de LLA a pacientes que no responden. Por lo tanto, la presente invención proporciona medios y métodos para una terapia de LLA hecha a medida que reduce el riesgo de efectos secundarios, ahorra tiempo valioso para el tratamiento con agentes adecuados, y evita la exposición innecesaria a medicamentos.

Por lo tanto, los usos y métodos descritos aquí incluyen la estratificación de pacientes con LLA. "Estratificación" se refiere a la clasificación de los pacientes en aquellos que pueden o no beneficiarse de una terapia de LLA posterior, en particular una terapia de LLA que implica la administración del agente de disminución de células B aplicado en los métodos y usos inventivos.

De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona un agente de disminución de células B capaz de reducir las células B CD19+ periféricas para uso en un método de conservación o aumento del número de supervivientes a largo plazo en un grupo de pacientes que padecen leucemia linfoblástica aguda de precursores B (LLA) recidivante/refractaria en adultos. En el método mencionado anteriormente, se administra una cantidad (terapéuticamente eficaz) de agente de disminución de células B a dicho grupo de pacientes, se observa el número de células B en la sangre de dichos pacientes dentro de un primer período de tiempo predefinido que comienza con el primer día de tratamiento inicial con el agente de disminución de células B, y el régimen de tratamiento o la dosis de un agente de disminución de células B se ajusta de manera que el número de células B en la sangre de dichos pacientes permanece o cae por debajo de una célula B/ml de suero dentro de un segundo período de tiempo predefinido de 8 días después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B, en el que dicho agente de disminución de células B es Blinatumomab y dichos supervivientes a largo plazo están vivos durante ≥ 30 meses después de comenzar el tratamiento con Blinatumomab.

Se prevé que el método mencionado anteriormente sea útil para conservar o aumentar el número de supervivientes a largo plazo en un grupo de pacientes con LLA. Es decir, con ayuda de dicho método, el número de supervivientes a largo plazo en el grupo de pacientes tratados según el método inventivo ("pacientes tratados") será preferiblemente al menos igual al número de supervivientes a largo plazo en el grupo de pacientes no tratados según el método inventivo ("pacientes no tratados"). Preferiblemente, el número de supervivientes a largo plazo en el grupo de pacientes tratados incluso superará el número de supervivientes a largo plazo en el grupo de pacientes no tratados. En particular, los "pacientes no tratados" pueden incluir pacientes que hayan recibido otro tratamiento de LLA, tal como un tratamiento de LLA como el descrito en la sección "tratamiento adicional de LLA".

LLA

Los medios y métodos de la presente invención están previstos para uso en el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda de precursores B (LLA) recidivante/refractaria en adultos; todas las demás LLA descritas aquí son sólo para referencia.

La "leucemia linfoblástica aguda" o "LLA", también conocida como leucemia linfocítica aguda o leucemia linfoide aguda, generalmente se refiere a una forma aguda de leucemia que típicamente se caracteriza por la sobreproducción y/o acumulación de glóbulos blancos cancerosos e inmaduros (también denominados linfoblastos). Como se utiliza aquí, el término "LLA" incluye LLA aguda, refractaria y recidivante. La expresión "LLA refractaria", como se utiliza aquí, significa resistencia de la LLA a la terapia convencional o estándar para la LLA, tal como la quimioterapia y/o el trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT), es decir, la terapia convencional o estándar para la LLA no puede curar en última instancia a todos los pacientes con LLA. La expresión "LLA recidivante", como se utiliza aquí, denota el regreso de los signos y síntomas de la enfermedad de LLA después de que un paciente haya disfrutado de una remisión. Por ejemplo, después del tratamiento convencional de LLA con quimioterapia y/o HSCT, un paciente con LLA puede entrar en remisión sin ningún signo o síntoma de LLA, permanecer en remisión durante un par de años, pero entonces sufrir una recaída y tener que recibir tratamiento nuevamente para LLA. El término "LLA", como se utiliza aquí, también incluye la enfermedad residual mínima (MRD) en un paciente con LLA, es decir, la presencia de una pequeña cantidad de linfoblastos cancerosos que quedan en el paciente durante el tratamiento o después del tratamiento cuando el paciente está en remisión.

El término "LLA" generalmente abarca LLA de células B y LLA de células T. El término "canceroso" se utiliza aquí indistintamente con el término "maligno" para designar células que no son autolimitadas en su crecimiento, son capaces de invadir tejidos adyacentes, y pueden ser capaces de propagarse a tejidos distantes (hacer metástasis).

Se prevé que los métodos y usos descritos aquí son particularmente útiles para tratar la LLA de células B, incluida LLA de células B precursoras, tal como LLA pro-B, LLA pre-B, o LLA común (cALL), y LLA de células B maduras (leucemia de Burkitt). El término "LLA" incluye tanto LLA pediátrica como LLA en adultos. Se prevé en particular que los medios y métodos de la presente invención sean útiles para el tratamiento de LLA de precursores B en adultos, recidivante y/o refractaria.

El término "paciente" incluye a todos los mamíferos, pero no se limita a ratones, ratas, perros, caballos, camellos, primates, etc., siendo los primates los preferidos, y los seres humanos, incluidos niños y adultos, los más preferidos. Cuando se utiliza aquí, el término "sujeto" se utiliza indistintamente con el término "paciente". Lo que se describe aquí con referencia a un "paciente" también se aplica a un grupo de pacientes, mutatis mutandis.

La expresión "LLA pediátrica" o "paciente con LLA pediátrica", como se hace referencia aquí, denota niños de entre un mes y 18 años de edad. La edad indicada debe entenderse como la edad de los niños en el momento del diagnóstico de la enfermedad de LLA. Ambos intervalos de tiempo incluyen específicamente el límite superior y también el límite inferior. Esto significa que, por ejemplo, un intervalo de tiempo "de un mes a 18 años" incluye "un mes" y "18 años". WO 2010/052013 proporciona medios y procedimientos para tratar la LLA pediátrica o infantil, en particular la LLA pediátrica refractaria y/o recidivante.

La expresión "LLA en adultos" o "paciente adulto con LLA", como se hace referencia aquí, 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. Incluso pacientes de 70, 75, 80, 85, 90, 100 años o más pueden ser tratados mediante los métodos y medios de la invención. La edad indicada debe entenderse como la edad del adulto en el momento del diagnóstico de la enfermedad de LLA. WO 2010/052014 proporciona medios y procedimientos para tratar la LAA adulta.

La expresión "superviviente a largo plazo" se utiliza aquí para referirse a pacientes que viven 18 meses o más desde el tratamiento inicial con el agente de disminución de células B aplicado, es decir, el momento de recibir la primera dosis del agente de disminución de células B, por ejemplo alrededor de 18 meses, alrededor de 20 meses, alrededor de 25 meses, alrededor de 30 meses, o más. Se prevé en particular que los supervivientes a largo plazo vivan alrededor de 30 meses o más después de recibir la primera dosis del agente de reducción beta-dell.

Agente de disminución de células B

La invención se refiere a blinatumomab para el uso según las reivindicaciones; todos los demás agentes de disminución de células B descritos aquí son sólo para referencia.

Los usos y métodos de la presente invención implican la administración de un agente de disminución de células B (cantidad terapéuticamente efectiva de) a un paciente (o un grupo de pacientes).

En general, es concebible cualquier vía de administración dependiendo, por ejemplo, de la formulación, la biodisponibilidad y el mecanismo de acción del agente de disminución de células B. Por ejemplo, el agente de disminución de células B se puede administrar por vía oral, tópica, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular o intraocular. Sin embargo, el experto en la técnica podrá elegir fácilmente cualquier otra vía si así lo desea. Por "cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende una cantidad del agente de disminución de células B que produce un efecto terapéutico deseado, por ejemplo alivio o mejora (completa o parcial) de los síntomas o la afección del paciente con LLA (o grupo de pacientes), o cualquier otra mejora deseada en los síntomas, la enfermedad o afección del paciente (o grupo de pacientes). La dosis exacta puede depender, por ejemplo, de la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, la interacción farmacológica y la gravedad de la afección, como se podrá determinar mediante experimentación habitual por parte de los expertos en la técnica.

La expresión "agente de disminución de células B" en general se refiere a un agente capaz de reducir y/o controlar la cantidad de células B en un paciente.

La expresión incluye entonces agentes que destruyen directa o indirectamente algunas o todas las células B, por ejemplo mediante la inducción de señales de muerte celular, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), o activación de células T citotóxicas, y agentes que bloquean la activación o el desarrollo de las células B. La expresión "célula B" incluye células B progenitoras (o pre-pro), células B pro (o pre-pre) tempranas, células B pro (o pre-pre) tardías, células pre-B grandes, células pre-B pequeñas, células B inmaduras y células B maduras. La disminución de células B puede ser parcial o completa, es decir, afectar a todas las células B o subpoblaciones de células B. Los agentes de disminución de células B preferidos para uso en los métodos de la invención pueden reducir (o mantener) el nivel de células B en la sangre de un paciente (o grupo de pacientes) dentro de un segundo período de tiempo predefinido a una célula B/ml de suero o menos, como puede determinar la persona experta utilizando experimentación habitual como se describe aquí. Se prevé en particular que los agentes de disminución de células B utilizados en los métodos de la invención sean capaces de disminuir las células B CD19+ periféricas.

Los agentes de disminución de células B son conocidos en la técnica, e incluyen, sin limitación, bloqueadores de la coestimulación (abatacept y proteína 1 relacionada con 7), citocinas (tocilizumab y baminercept), agentes dirigidos contra el receptor de células B (abetimus y edratide), agentes dirigidos contra CD20, CD22, CD19, CD40-CD40L, factor activador de células B perteneciente a la familia TNF (BAFF), o ligando inductor de proliferación A (APRIL). De acuerdo con lo anterior, los agentes de disminución de células B ejemplares incluyen agentes anti-CD20 (por ejemplo, anticuerpos anti-CD20 tales como rituximab, ofatumumab, ocrelizumab, veltuzumab, tositumomab, ibritumomab), agentes anti-CD25 (por ejemplo, anticuerpos anti-CD25 tales como alemtuzumab), inhibidores de BAFF (por ejemplo, belimumab, atacicept), agentes anti-CD154 (por ejemplo, anticuerpos anti-CD154 tales como ruplizumab, toralizumab), agentes anti-CD19 (por ejemplo, MDX-1342), agentes anti-CD22 (por ejemplo, epratuzumab) y globulina antitímocítica (ATG).

Sin querer estar limitador por la teoría, se cree que blinatumomab une transitoriamente células B CD19+ a células T CD3+, induciendo así la lisis serial mediada por células T de las células B y la proliferación concomitante de células T.

Blinatumomab comprende las

(a) CDR anti-CD3 de la cadena pesada mostrada como CD3 CDR-H1 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

5 (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

10 (c) CDR anti-CD19 de la cadena pesada mostrada como CD19 CDR-H1 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

15 (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).

Blinatumomab también comprende la

20 (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

(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

25 (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).

30 Blinatumomab también comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en

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

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

La molécula de unión a CD19 de un anticuerpo CD19 x CD3 se caracteriza por las regiones VH y VL o las CDR como se describe aquí para Blinatumomab.

40 Se prevé que el número de células B en la sangre del paciente (o grupo de pacientes) permanezca o caiga por debajo de una célula B/ml de suero dentro del segundo período de tiempo predefinido como se define aquí.

45 En general, el número de células B se puede evaluar a través de varias técnicas disponibles en la técnica, por ejemplo utilizando el recuento y diferencial de glóbulos blancos (WBC, o leucocitos). Los glóbulos blancos se pueden contar manualmente en hemocitómetros (cámara de Neubauer) o con contadores automáticos. Para determinar el diferencial, se puede esparcir una gota de sangre fina sobre un portaobjetos de vidrio, dejarla secar al aire y teñirla con un colorante de Romanófsky, más comúnmente la técnica de Wright o May-Grunewald-Giemsa. Después, las células se cuentan y clasifican mediante un examen morfológico y/o histoquímica como se describe en Blumenreich MS. The White Blood Cell and Differential Count. En: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editores. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3ª edición. Boston: Butterworths; 1990. Capítulo 153. Como alternativa, los leucocitos se aíslan de una muestra de sangre y se tiñen con anticuerpos marcados con fluorescencia contra marcadores de superficie de células linfocitarias, y posteriormente se analizan mediante citometría de flujo como se describe en los ejemplos adjuntos. Los porcentajes de cada tipo de linfocito se multiplican por los números absolutos de linfocitos para calcular los números absolutos de células para cada subpoblación de linfocitos.

55 Se prevé que el número de células B en la sangre del paciente tratado (o grupo de pacientes tratado) permanezca o caiga por debajo de una célula B/ml de suero dentro de un segundo período de tiempo predefinido después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B. El tratamiento inicial con el agente de disminución de células B aplicado significa preferiblemente el primer tratamiento con dicho agente de disminución de células B aplicado, es decir, el paciente (o grupo de pacientes) no ha recibido anteriormente el agente de disminución de células B aplicado. Sin embargo, dicho paciente (o grupo de pacientes) puede haber recibido tratamientos de LLA adicionales como se describe en otra parte aquí anteriormente. También es concebible que el paciente (o grupo de pacientes) haya recibido otro agente de disminución de células B antes del tratamiento inicial con el agente de disminución de células B aplicado. Por ejemplo, cuando un primer agente de disminución de células B no tiene efecto terapéutico y/o no logra reducir (o mantener) el número de células B en la sangre de un paciente (o grupo de pacientes) a una célula

B/ml de suero o menos, se puede utilizar un segundo agente de disminución de células B. El tratamiento inicial con el segundo agente de disminución de células B comenzará entonces el primer día de tratamiento del paciente (o grupo de pacientes) con el segundo agente de disminución de células B. Es decir, es concebible aplicar los métodos de la invención repetidamente (es decir, en varios ciclos) con diferentes agentes de disminución de células B, comenzando el "tratamiento inicial" el día del primer tratamiento con el agente de disminución de células B del ciclo respectivo. La expresión agente de disminución de células B "diferente" también incluye el mismo agente de disminución de células B que se utilizó en un ciclo anterior, pero en una formulación, concentraciones o similares diferentes. También es concebible repetir varios ciclos de tratamiento con el mismo agente de disminución de células B hasta alcanzar el nivel deseado de células B en la sangre del paciente (o grupo de pacientes).

Se prevé que el "período de tiempo predefinido" en el que el número de células B permanece o cae por debajo de una célula B/ml de suero sea 15 días o menos, es decir, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 días o menos, denominado segundo período de tiempo predefinido, en el que el segundo período de tiempo predefinido según la invención reivindicada es 8 días después del tratamiento inicial con el agente de disminución de células B. La duración del segundo período de tiempo predefinido puede ser determinada por un experto en la técnica, y puede depender del agente de disminución de células B aplicado, su concentración, el régimen de tratamiento, el tipo de LLA a tratar, y similares. Sin querer estar limitador por la teoría, se cree que cuando el número de células B se puede ajustar al número deseado de una célula B/ml de suero o menos dentro del segundo período de tiempo predefinido, es probable que el tratamiento posterior sea eficaz. Una posible razón es la expansión de la población de células T y/o TEM en pacientes que muestran una eliminación de células B (periféricas), lo que puede mejorar la actividad clínica de terapias posteriores de la LLA que emplean el potencial citotóxico del sistema de células T. "Tratamiento posterior" puede comprender un tratamiento adicional con el agente de disminución de células B aplicado en el método inventivo, con otro agente de disminución de células B, un tratamiento de LLA adicional como se describe aquí o combinaciones de los mismos después de que los números de células B se hayan reducido con éxito a (o mantenido en) una célula B por ml/suero o menos dentro del segundo período de tiempo predefinido. En general también es concebible que no sea necesario ningún tratamiento posterior. Además, se prevé que los pacientes (o grupos de pacientes) en los que el número de células B en la sangre se puede reducir o mantener en una célula B/ml de suero o menos dentro del segundo período de tiempo predefinido probablemente se beneficiarán de una terapia de LLA posterior, mientras que los pacientes en los que el número de células B en la sangre excede una célula B/ml de suero dentro del segundo período de tiempo predefinido, probablemente no se beneficiarán de una terapia de LLA posterior.

En otra parte aquí se han definido medios y métodos para determinar/monitorizar el número de células B en la sangre de un paciente (o grupo de pacientes). En particular, el primer período de tiempo es más corto que el segundo período de tiempo predefinido como se define en otra parte aquí. La etapa (b) del método inventivo es útil para determinar si el paciente responde o no a la administración de dicho agente de disminución de células B, es decir, para estratificar a los pacientes en aquellos que probablemente se beneficiarán del tratamiento posterior de LLA después del primer período de tiempo predefinido y aquellos que no. Si el número de células B permanece o cae por debajo de una célula B/ml de suero dentro de dicho primer período de tiempo predefinido, entonces es probable que el tratamiento posterior sea terapéuticamente eficaz.

Sin embargo, si el agente de disminución de células B, por ejemplo, no logra reducir o mantener el número de células B en el nivel deseado de una célula B/ml de suero o menos dentro del primer período de tiempo predefinido, entonces el agente de disminución de células B se puede ajustar de tal manera que el número de células B en la sangre del paciente (o grupo de pacientes) permanezca o caiga por debajo de una célula B/ml de suero dentro de un segundo período de tiempo predefinido después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B.

En general, el primer período de tiempo predefinido y el segundo período de tiempo predefinido pueden tener cualquier duración, siempre que el primer período de tiempo predefinido sea más corto que el período de tiempo predefinido. Ambos períodos de tiempo comienzan con el primer día del tratamiento inicial con el agente de disminución de células B aplicado en los métodos inventivos, es decir, el mismo día. El médico experto podrá determinar fácilmente la duración deseada del primer período de tiempo predefinido, dependiendo, por ejemplo, del agente de disminución de células B, su concentración, formulación, régimen de tratamiento, el tipo de LLA, la constitución física y los hallazgos del paciente (o grupo de pacientes), y el segundo período de tiempo predefinido.

Ajuste

Los métodos de la invención pueden implicar además "ajustar" el agente de disminución de células B. El término "ajuste" se refiere a una modificación intencionada del agente de disminución de células B para lograr un número de células B/ml de suero o menos en el paciente tratado (o grupo de pacientes). De este modo, el número de células B en la sangre de un paciente con LLA se utiliza para ajustar la dosis o el régimen de tratamiento con el agente de disminución de células B de tal manera que el número de células B en la sangre de dicho paciente permanezca o caiga por debajo de una célula B/ml de suero dentro de un (primer) período de tiempo predefinido después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B. El ajuste (modificación intencionada) puede implicar la modificación de la dosis, el régimen de tratamiento, la formulación, o similares. Por ejemplo, si el número de células B en la sangre de un paciente excede una célula B/ml de suero dentro de un (primer) período predefinido, se puede

administrar una dosis más alta de agente de disminución de células B, o el agente de disminución de células B se puede administrar durante un período de tiempo prolongado.

5 La dosis exacta de agente de disminución de células B dependerá del propósito del tratamiento (por ejemplo, mantenimiento de la remisión frente a brote agudo de la enfermedad), la vía de administración, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el momento de la administración, la interacción farmacológica y la gravedad de la afección, y será determinable por un experto en la técnica utilizando técnicas conocidas.

10 En general, es concebible cualquier modificación siempre que tenga como resultado, preferentemente, que el número de células B en la sangre del paciente tratado (grupo de pacientes) se reduzca o se mantenga en un número de una célula B/ml de suero o menos dentro del segundo período de tiempo predefinido. La modificación también puede incluir la aplicación adicional de otros tratamientos de LLA como se describe aquí, y/o la administración de otro agente de disminución de células B.

15 De acuerdo con lo anterior, se proporciona un método para ajustar la dosis o el régimen de tratamiento con un agente de disminución de células B en un paciente que padece LLA. Dicho método comprende el etapa de observar el número de células B en la sangre de dicho paciente con LLA dentro de un primer período de tiempo predefinido después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B, y ajustar la dosis o el régimen de tratamiento de manera que el número de células B en la sangre de dicho paciente permanezca o caiga por debajo de una célula B/ml de suero dentro de un segundo período de tiempo predefinido después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B.

Tratamiento adicional de LLA

25 También es concebible utilizar otros tratamientos de LLA en combinación con los usos y métodos de la invención. Además, todo tratamiento de LLA puede aplicarse en general de forma anterior, simultánea y/o posterior a los usos y métodos de la invención.

30 El trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCT) es un tratamiento común de la LLA. La expresión se refiere generalmente al trasplante de células madre hematopoyéticas, usualmente derivadas de médula ósea o sangre, y comprende HSCT autólogo (es decir, las células madre derivan del paciente) y alogénico (es decir, las células madre derivan de un donante). Para el tratamiento de LLA, generalmente se prefiere el HSCT alogénico. También se prevé que los usos y métodos de la presente invención se puedan aplicar antes o después del HSCT, o ambos, o entre dos tratamientos de HSCT.

35 Los pacientes (o grupos de pacientes) tratados según los métodos de la invención también pueden recibir un tratamiento quimioterapéutico. En el contexto de la presente invención, un "tratamiento quimioterapéutico" se refiere a un tratamiento con un agente antineoplásico o la combinación de más de uno de estos agentes en un régimen de tratamiento estandarizado. En el contexto de la presente invención, la expresión "tratamiento quimioterapéutico" comprende cualquier agente antineoplásico, incluyendo moléculas orgánicas de tamaño pequeño, péptidos, oligonucleótidos y similares. Los agentes incluidos en la definición de quimioterapia son, sin limitación, agentes alquilantes, por ejemplo mecloretamina, ciclofosfamida, melfalán, clorambucilo, ifosfamida, busulfán, N-nitroso-N-metilurea (MNU), carmustina (BCNU), lomustina (CCNU), semustina (MeCCNU), fotemustina, estreptoizotocina, dacarbazina, mitozolomida, temozolomida, tiotepa, mitomicina, diaziquona (AZQ), cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, procarbazona y hexametilmelamina; antimetabolitos, por ejemplo metotrexato, pemetrexed, fluorouracilo, capecitabina, citarabina, gemcitabina, decitabina, Vidaza, fludarabina, nelarabina, cladribina, clofarabina, pentostatina, tioguanina, mercaptopurina; agentes antimicrotúbulos, por ejemplo vincristina, vinblastina, vinorelbina, vindesina, vinflunina, paclitaxel, docetaxel, podofilotoxina; inhibidores de la topoisomerasa, por ejemplo irinotecán, topotecán, etopósido, doxorubicina, mitoxantrona, tenipósido, novobiocina, merbarona, aclarubicina; antibióticos citotóxicos, por ejemplo actinomicina, bleomicina, plicamicina, mitomicina, doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina, pirarubicina, aclarubicina, y mitoxantrona.

50 El tratamiento adicional de LLA también incluye radioterapia. También se prevé el tratamiento o profilaxis del SNC para evitar que las células malignas se propaguen en el SNC, por ejemplo mediante quimioterapia intratecal y/o radioterapia del cerebro y la médula espinal.

55 Dado que los presentes inventores especulan que el éxito terapéutico del tratamiento de LLA podría basarse (en parte) en una expansión de las poblaciones de células T que dé como resultado una actividad anticancerígena mejorada de las células T, también se prevén inductores y potenciadores de la activación y/o proliferación de las células T, células T CAR, células T donantes, anticuerpos anti-antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), y otros.

Tratamiento

65 El término "tratamiento", en todas sus formas gramaticales, incluye el tratamiento terapéutico o profiláctico de LLA. Un "tratamiento terapéutico o profiláctico" comprende tratamientos profilácticos destinados a la prevención completa de

manifestaciones clínicas y/o patológicas, o tratamientos terapéuticos destinados a la mejora o remisión de manifestaciones clínicas y/o patológicas. El término "tratamiento" incluye también la mejora o prevención de LLA. 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 administración de un agente de disminución de células B (preparado para administración a un paciente con LLA) como se describe aquí es para el tratamiento, mejora o eliminación de la LLA en pacientes.

Composición farmacéutica

Se prevé administrar el agente de disminución de células B en forma de composición farmacéutica. La expresión "composición farmacéutica" se refiere particularmente a una composición adecuada para administrar a un ser humano o un animal, es decir, una composición que contiene componentes que son farmacéuticamente aceptables. Preferiblemente, una composición farmacéutica comprende un agente de disminución de células B junto con uno o más excipientes farmacéuticos. La composición también puede comprender otros agentes de LLA como se describe en otra parte aquí. El término "excipiente" incluye cargas, aglutinantes, disgregantes, recubrimientos, sorbentes, antiadherentes, deslizantes, conservantes, antioxidantes, aromatizantes, colorantes, agentes edulcorantes, disolventes, codisolventes, agentes amortiguadores, agentes quelantes, agentes que imparten viscosidad, agentes tensoactivos, diluyentes, humectantes, portadores, diluyentes, conservantes, emulsionantes, estabilizadores, o modificadores de tonicidad. Las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden preferiblemente una cantidad terapéuticamente eficaz de agente de disminución de células B, y se pueden formular en diversas formas, por ejemplo en forma sólida, líquida, gaseosa o liofilizada, y pueden estar, entre otras, en forma de ungüento, una crema, parches transdérmicos, un gel, polvo, un comprimido, disolución, un aerosol, gránulos, píldoras, suspensiones, emulsiones, cápsulas, jarabes, líquidos, elixires, extractos, tinturas o extractos fluidos, o en una forma que sea particularmente adecuada para el método de administración deseado.

Una mejor comprensión de la presente invención y de sus ventajas se obtendrá a partir del siguiente ejemplo, ofrecido sólo con fines ilustrativos. El ejemplo no pretende limitar el alcance de la presente invención de ningún modo.

EJEMPLO

SUMARIO

Se realizó un estudio de fase 2 para evaluar la actividad y seguridad del constructo de anticuerpo acoplador de células T biespecífico (BiTE[®]) blinatumomab en 36 adultos con leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B recidivante/refractaria. En el análisis primario, se observó una remisión completa con recuperación total (CR) o parcial (CRh) de los recuentos periféricos en 25 (69%) pacientes y una respuesta de enfermedad residual mínima (MRD) ($< 10^{-4}$) en 25 (69%) pacientes (23 respondedores y 3 pacientes con médula ósea hipocelular). En este análisis de seguimiento a largo plazo, la supervivencia libre de recaída mediana fue 8,8 meses (seguimiento mediano, 28,9 meses) y la supervivencia general (SG) mediana fue 13,0 meses (seguimiento mediano, 32,6 meses). Una respuesta de MRD al blinatumomab se asoció con una supervivencia general significativamente más prolongada ($p = 0,009$). Diez pacientes (28%) fueron supervivientes a largo plazo, definidos como $SG \geq 30$ meses. Seis supervivientes a largo plazo recibieron un trasplante alogénico de células madre (SCT) como consolidación para blinatumomab. Cuatro supervivientes a largo plazo no recibieron SCT alogénico como consolidación para blinatumomab, incluidos tres que no recibieron tratamiento después de blinatumomab. Uno tuvo una recaída CD19-negativa durante el tercer ciclo, y logró otra CR con quimioterapia y SCT alogénico como consolidación para la quimioterapia. Los eventos neurológicos o el síndrome de liberación de citocinas llevaron a la interrupción temporal del tratamiento con blinatumomab en tres supervivientes a largo plazo, todos los cuales reiniciaron el tratamiento con blinatumomab con éxito. Los supervivientes a largo plazo tuvieron una eliminación más rápida de las células B periféricas y una expansión de células T significativamente mayor que los pacientes con una $SG < 30$ meses. Estos datos sugieren que la supervivencia a largo plazo después del tratamiento con blinatumomab podría estar asociada con un alto grado de expansión de células T y respuesta de MRD.

INTRODUCCIÓN

El pronóstico es malo para los pacientes adultos con LLA de precursores B en recaída/refractaria (r/r). Se ha informado que el tratamiento con quimioterapia da como resultado una supervivencia global media (SG) de 4,5 a 8,4 meses,¹⁻⁵ y las tasas de SG a 5 años son sólo del 7% al 10%.^{1,2} La SG media es de 5,8 meses entre los pacientes que recaen después de un trasplante alogénico de células madre (SCT), y de 10 meses entre los pacientes que recaen después de quimioterapia solamente (sin SCT alogénico previo).⁵

Blinatumomab, un constructo de anticuerpo acoplador de células T biespecífico CD19/CD3 (BiTE[®]), conduce a una lisis redirigida de las células B diana CD19-positivas (CD19⁺) al inducir una sinapsis citolítica transitoria entre las células diana y las células T.⁶ En un estudio exploratorio de fase 2 de búsqueda de dosis en pacientes adultos con LLA de precursores B r/r (incluidos pacientes en primera recaída tardía >12 meses), el 69% de los pacientes lograron una respuesta completa (CR) o una respuesta completa con recuperación hematológica parcial (CRh), y el 88% de

los respondedores lograron una respuesta de enfermedad residual mínima (MRD).⁷ Además, se observó una respuesta de MRD en tres pacientes con médula ósea hipocelular. El estudio exploró tanto la dosificación fija como la dosificación en una sola etapa y en dos etapas para prevenir el síndrome de liberación de citocinas (CRS) grave. En un estudio confirmatorio de fase 2 de 189 pacientes con LLA de precursores B r/r, incluidos aquellos con recaída temprana (menos de 12 meses) después de la primera remisión, el 43% logró RC o CRh después de dos ciclos de tratamiento con blinatumomab. La mediana de la supervivencia libre de recaída (SLR) fue de 5,9 meses; la mediana de la SG fue de 6,1 meses.⁸

El primer análisis del estudio de búsqueda de dosis de fase 2 mencionado anteriormente había analizado la SG con una mediana de seguimiento de 12,1 meses.⁷ El análisis de seguimiento a largo plazo presentado aquí evaluó la SG con una mediana de seguimiento de 32,6 meses. Los supervivientes a largo plazo se definieron como pacientes que estuvieron vivos durante ≥ 30 meses después de comenzar el tratamiento con blinatumomab. Evaluamos las características clínicas, incluidos los antecedentes médicos relacionados con la enfermedad de los supervivientes a largo plazo antes del tratamiento con blinatumomab, los resultados del tratamiento con blinatumomab, incluidas las respuestas hematológicas y de MRD al blinatumomab, los eventos adversos, la consolidación con SCT alogénico, las recaídas, y la cinética de células T y B durante el tratamiento.

PACIENTES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Este informe describe un análisis de seguimiento de la recaída y la supervivencia general; los métodos del análisis primario se describieron en otra parte.⁷ Este fue un estudio de fase 2, abierto, multicéntrico, exploratorio, de un solo brazo, en pacientes adultos con LLA de precursores B r/r realizado en colaboración con el Grupo de Estudio Alemán para la Leucemia Linfoblástica Aguda en Adultos. La población diana fueron pacientes con cromosoma Filadelfia (Ph) negativo y Ph positivo con enfermedad refractaria primaria o recaída. Los criterios de exclusión clave fueron: LLA Ph-positiva apta para tratamiento con dasatinib o imatinib; SCT autólogo dentro de las 6 semanas y un SCT alogénico dentro de los 3 meses anteriores al inicio del tratamiento con blinatumomab; antecedentes o presencia de patología del sistema nervioso central (SNC) clínicamente relevante, leucemia del SNC activa, enfermedad de injerto frente a hospedante (GVHD) activa y/o terapia inmunosupresora para GVHD dentro de 1 semana del inicio del tratamiento con blinatumomab, o infecciones activas.⁷ El protocolo del estudio fue aprobado por el Instituto Paul-Ehrlich y el comité de ética independiente de cada sitio de estudio, y se obtuvo la autorización escrita de todos los pacientes. Los datos de toxicidad y eficacia fueron revisados por un comité de monitorización de datos independiente. Identificador de ClinicalTrials.gov: NCT01209286.

Procedimientos de estudio

Los primeros 2 ciclos de blinatumomab se administraron para inducir remisiones. Se obtuvo un aspirado o biopsia de médula ósea antes del primer ciclo de blinatumomab y el día 29 de cada ciclo; la citomorfología y la MRD se evaluaron en laboratorios de referencia centrales. La remisión hematológica completa con recuperación total de los recuentos sanguíneos periféricos (CR) se definió por $\leq 5\%$ de blastos en la médula ósea, sin evidencia de blastos circulantes o enfermedad extramedular, plaquetas $> 100.000/\mu\text{l}$, hemoglobina ≥ 11 g/dl, y recuento absoluto de neutrófilos (ANC) $> 1500/\mu\text{l}$. La remisión hematológica completa con recuperación parcial de los recuentos sanguíneos periféricos (CRh) se definió mediante los mismos criterios pero con un mínimo más bajo de recuentos sanguíneos periféricos (plaquetas $> 50.000/\mu\text{l}$, hemoglobina ≥ 7 g/dl, y ANC $> 500/\mu\text{l}$). Una respuesta de MRD se definió como MRD $< 10^{-4}$ mediante una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real específica del alelo para genes de inmunoglobulina y/o receptores de células T reordenados clonalmente (sensibilidad $\geq 10^{-4}$).⁹

Cada ciclo de tratamiento duró 6 semanas, incluidas 4 semanas de infusión intravenosa continua y un intervalo de 2 semanas sin tratamiento. En la etapa de búsqueda de dosis, se utilizaron los siguientes esquemas de dosificación: La Cohorte 1 (n = 7) recibió blinatumomab $15 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$; la Cohorte 2a (n = 5) recibió $5 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ en la semana 1 y después $15 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$; la Cohorte 2b (n = 6) recibió blinatumomab $5 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ en la semana 1, $15 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ en la semana 2, y después $30 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$. En la etapa de extensión, la Cohorte 3 (n = 18) utilizó el esquema de dosificación de la Cohorte 2a. En caso de CR o CRh, se permitió el tratamiento de consolidación con hasta 3 ciclos adicionales de blinatumomab y/o SCT alogénico. Después de un caso de CRS de grado 4, se permitió el tratamiento prefásico con dexametasona (≤ 24 mg durante 1-5 días) y/o ciclofosfamida ($200 \text{ mg}/\text{m}^2$ durante 1-4 días). Todos los pacientes recibieron profilaxis intratecal obligatoria del SNC con metotrexato 15 mg , citarabina 40 mg y dexametasona 4 mg administrada mediante punción lumbar durante la selección y el día 29 de cada ciclo. Se administró dexametasona intravenosa 16 mg o equivalente dentro de la hora siguiente al inicio del tratamiento. Los eventos adversos se recopilaron a lo largo del estudio, y se calificaron según los Criterios de Terminología Común para Eventos Adversos (versión 4.0).¹⁰

Análisis de subpoblaciones de linfocitos

Utilizando métodos que se describieron previamente, se aislaron 11 células mononucleares de sangre periférica en diversos puntos temporales antes y durante el primer y segundo ciclo de tratamiento con blinatumomab, y se tiñeron con anticuerpos marcados con fluorescencia contra los siguientes marcadores de superficie celular: CD3⁺/CD13⁻/CD14⁻ o CD3⁺/CD45⁺ (células T); CD3⁺/CD45RA⁺/CD197⁻ (células T de memoria efectoras [T_{EM}]); y CD19⁺/CD13⁻/CD14⁻ o CD19⁺/CD45⁺ (células B). Los datos de citometría de flujo se recopilaron en un instrumento FACSCanto II (Becton Dickinson, Heidelberg, Alemania) o Navios 10/3 (Beckman Coulter, Krefeld, Alemania). Las estadísticas se analizaron mediante el software FCS Express (De Novo Software, Glendale, CA, EE. UU.) o Kaluza (Beckman Coulter). Los porcentajes de subpoblaciones de linfocitos se multiplicaron por los números absolutos de linfocitos de un hemograma diferencial para calcular los números absolutos de células para cada subpoblación de linfocitos. Los pacientes con conjuntos de datos completos (células T y T_{EM}, antes [=valor inicial] y en los días 8, 15, 22 y 29 de cada ciclo; células B, adicionalmente en el día 3 de cada ciclo) se incluyeron en el análisis, independientemente del régimen de dosificación de blinatumomab.

Análisis estadístico

La supervivencia sin recaída se midió desde el momento de la primera CR o CRh hasta la recaída hematológica o extramedular o la muerte resultante de cualquier causa. Los pacientes que todavía estaban en remisión al momento del bloqueo de datos se censuraron en el momento de la última evaluación del estado de remisión. La supervivencia general se midió desde el momento de la primera dosis de blinatumomab hasta la muerte por cualquier causa. Se utilizaron métodos de Kaplan-Meier para estimar la probabilidad de RFS y SG a lo largo del tiempo, proporcionando una mediana y un intervalo de confianza (IC) del 95%. Se realizó una prueba de Mantel-Byar para evaluar el beneficio de SG asociado con lograr una respuesta de MRD frente a no lograr una respuesta de MRD. Se realizó una prueba de *log-rank* para comparar la SG entre pacientes con SCT alogénico previo frente a aquellos sin SCT alogénico previo. Los supervivientes a largo plazo se definieron como pacientes con SG ≥ 30 meses. Se proporcionaron estadísticas resumidas de los supervivientes a largo plazo, incluidas las características clínicas antes del tratamiento con blinatumomab, el uso de SCT alogénico antes/después de blinatumomab, las respuestas al tratamiento y las recaídas, y los eventos adversos. Los pacientes se agruparon según SG < 30 meses, SG ≥ 30 meses con tratamiento adicional, y SG ≥ 30 meses sin tratamiento adicional. La definición de supervivencia general a largo plazo con una duración de al menos 30 meses se basa en datos publicados que muestran que la mayoría de los eventos ocurren durante los primeros 24 meses.⁵

RESULTADOS

Respuesta al tratamiento y supervivencia

Treinta y seis pacientes se trataron en nueve centros en Alemania entre el 6 de octubre de 2010 y el 19 de junio de 2012, con seguimiento en curso. Como se describió anteriormente para el análisis primario,⁷ la tasa de CR/CRh fue 69% (25 de 36 pacientes). Quince pacientes (42%) lograron RC y 10 pacientes (28%) lograron CRh. Los pacientes restantes presentaron remisión parcial (n = 2) o médula ósea hipocelular (n = 3); o fueron refractarios al tratamiento (n = 4) o no evaluables (n = 2). Veintidós de 25 pacientes con CR/CRh (88%) tuvieron una respuesta de MRD (tres respondedores no lograron una respuesta de MRD). Otros tres pacientes con médula ósea que no cumplían los criterios de recuperación hematológica parcial tuvieron una respuesta de MRD. Así, 25 de 36 pacientes (69%) que se trataron con blinatumomab tuvieron una respuesta de MRD.

Tras una mediana de tiempo de seguimiento de 28,9 meses, la mediana de RFS fue 8,8 meses (IC del 95%, 5,7-13,2 meses) (Figura 1A). Tras una mediana de tiempo de seguimiento de 32,6 meses, la mediana de SG fue 13,0 meses (IC del 95%, 8,5-21,9 meses) (Figura 1B). Se alcanzó una meseta para la RFS después de aproximadamente 18 meses, y para la SG después de aproximadamente 33 meses. Cuando los pacientes se censuraron para una respuesta de MRD en el análisis de SG, la mediana de SG fue 9,0 meses (IC del 95%, 2,4-15,8 meses); la razón de momios de Mantel-Byar fue 0,33 (*P* = 0,009), lo que sugiere una reducción del riesgo del 67% asociada con una respuesta de MRD (Figura 1B). No hubo diferencias en la SG entre los pacientes con SCT alogénico previo y los pacientes sin SCT alogénico previo (*log-rank P* = 0,6395; Figura 2).

Características clínicas de los supervivientes a largo plazo

Diez de 36 pacientes (28%) fueron supervivientes a largo plazo, definidos como SG ≥ 30 meses después del inicio del tratamiento con blinatumomab. Las principales características clínicas de los supervivientes a largo plazo se resumen en la Tabla 1. En la Tabla 1 Complementaria se proporciona una lista detallada de las características clínicas de cada paciente individual. De los 10 pacientes, cuatro se habían sometido a SCT alogénico antes del tratamiento con blinatumomab, y seis no. En el momento de la selección, los blastos en la médula ósea oscilaban entre el 8% y el 97%, y la edad oscilaba entre 21 y 72 años. Uno de los 10 pacientes tenía LLA con cromosoma Filadelfia positivo.

Las respuestas al tratamiento, el tratamiento de seguimiento, y las recaídas se resumen en la Tabla 2. La mayoría de los supervivientes a largo plazo habían logrado una RC (70%), pero los pacientes con CRh (20%) o médula ósea hipocelular (10%) también estaban entre los supervivientes a largo plazo. Todos los supervivientes a largo plazo

lograron una respuesta de MRD con el tratamiento con blinatumomab. Así, 10 de 25 pacientes (40%) con una respuesta de MRD (incluidos tres con médula ósea hipocelular y respuesta de MRD) fueron supervivientes a largo plazo, mientras que ninguno de los 11 pacientes sin una respuesta de MRD fue un superviviente a largo plazo.

5 Tres de los supervivientes a largo plazo sufrieron una recaída después del tratamiento con blinatumomab, incluidos dos con una recaída CD19-positiva y uno con una recaída CD19-negativa. Uno de los pacientes que recayó recibió un nuevo tratamiento con blinatumomab y dos recibieron quimioterapia. Un paciente recayó dentro de los 12 meses posteriores al inicio del tratamiento con blinatumomab; dos pacientes recayeron más de 12 meses después del inicio del tratamiento con blinatumomab. En las siguientes secciones se proporcionan detalles de los pacientes que recayeron después del tratamiento con blinatumomab.

Supervivientes a largo plazo con SCT alogénico como consolidación para blinatumomab

15 Seis de los 10 supervivientes a largo plazo se sometieron a un SCT alogénico como consolidación para blinatumomab (Tabla 2). Tres de los seis pacientes habían recibido previamente un SCT alogénico antes del tratamiento con blinatumomab. Cinco de los seis pacientes todavía estaban vivos en el último seguimiento para este análisis, incluidos los tres pacientes que recibieron SCT alogénico antes del blinatumomab. Uno de los tres pacientes había logrado una médula ósea hipocelular como respuesta al tratamiento con blinatumomab; los otros pacientes lograron una CR o CRh como la mejor respuesta al tratamiento con blinatumomab.

20 Un superviviente a largo plazo murió de GVHD 31,9 meses después del inicio del tratamiento con blinatumomab. Este paciente recibió un SCT alogénico como consolidación para blinatumomab y tuvo una recaída CD19-positiva 10 meses después del SCT alogénico. El paciente logró otra remisión con quimioterapia FLAG-IDA, y recibió un segundo SCT alogénico como consolidación para la quimioterapia.

25 Supervivientes a largo plazo sin SCT alogénico como consolidación para blinatumomab

30 Cuatro de los 10 supervivientes a largo plazo no se sometieron a un SCT alogénico como consolidación para blinatumomab. Los cuatro lograron una CR o CRh como la mejor respuesta al tratamiento con blinatumomab. Uno de estos cuatro pacientes había recibido dos SCT alogénicos previos. Los cuatro pacientes seguían vivos en el último seguimiento para este análisis. Dos de estos cuatro pacientes se encuentran en remisión continua sin tratamiento adicional. Un paciente ha sobrevivido durante 3,5 años desde el inicio del tratamiento con blinatumomab (el paciente tuvo un CRS de grado 4 reversible). El otro paciente ha sobrevivido durante 4 años desde el inicio del tratamiento con blinatumomab (el paciente presentó un evento neurológico de grado 3 reversible). Los otros dos pacientes recayeron después del tratamiento con blinatumomab. Uno de estos pacientes tuvo dos recaídas CD19-positivas más de 12 meses después de haber recibido 5 ciclos de blinatumomab, pero respondió a blinatumomab después de cada recaída con una remisión MRD-negativa (3 ciclos de retratamiento cada vez). El segundo paciente tuvo una recaída CD19-negativa durante el tercer ciclo de blinatumomab. Este paciente logró otra remisión después de la quimioterapia FLAG-IDA, y recibió SCT alogénico como consolidación para la quimioterapia. El paciente seguía vivo tras un seguimiento de 46 meses. No se informaron recaídas en el sistema nervioso central.

Eventos adversos en supervivientes a largo plazo

45 Ocho de los diez supervivientes a largo plazo tuvieron eventos neurológicos, principalmente dolor de cabeza y temblor (en su mayoría de grado 1), y dos tuvieron CRS (grado 2 y 4, respectivamente). En el estudio exploratorio de búsqueda de dosis, tres pacientes (8%) presentaron CRS; y ocho pacientes requirieron interrupción del tratamiento debido a eventos neurológicos o CRS.⁷ En tres de los supervivientes a largo plazo, los eventos neurológicos de grado 3 o 4 o CRS dieron como resultado la interrupción del tratamiento (Tabla 3). Los tres pacientes lograron una CR o CRh como la mejor respuesta al tratamiento con blinatumomab, y no recibieron ningún otro tratamiento que blinatumomab (dos de los tres pacientes todavía están en remisión). El primer paciente presentó una crisis epiléptica focal de grado 2 en el primer ciclo de tratamiento con una dosis de 15 µg/m²/día. Este paciente reanudó el tratamiento, con profilaxis anticonvulsivante, a una dosis de 5 µg/m²/día sin más eventos adversos neurológicos. El segundo paciente presentó encefalopatía de grado 3 a una dosis de 30 µg/m²/día. Este paciente también reanudó el tratamiento a una dosis de 5 µg/m²/día sin más eventos adversos neurológicos. El tercer paciente presentó CRS de grado 4 a una dosis de 5 µg/m²/día. El paciente tenía un recuento de blastos en médula ósea del 90% antes del tratamiento, y no recibió tratamiento prefásico con dexametasona o ciclofosfamida. El paciente reanudó el tratamiento con dexametasona a una dosis de blinatumomab de 5 µg/m²/día sin aparición de CRS. Cuando la dosis se aumentó a 15 µg/m²/día al final de la semana 1, se registró CRS de grado 2, que también se mitigó con dexametasona.

60 Cinética de células T y células B

65 La expansión de células T CD3⁺, que se analizó mediante la cinética de los recuentos celulares medios durante los ciclos de tratamiento 1 y 2, se observó predominantemente en pacientes con SG ≥ 30 meses, tanto en el ciclo 1 como en el ciclo 2 (Figura 3A). Cabe destacar que la expansión de células T CD3⁺ más pronunciada se observó en el superviviente a largo plazo que tuvo un evento adverso neurológico de grado 3 y que no había recibido ningún otro

tratamiento que 5 ciclos de blinatumomab (Figura 3A). A pesar de la extensa expansión de células T, este paciente no mostró ningún síntoma o signo de GVHC. No se dispuso de cinética de células T para el superviviente a largo plazo con CRS de grado 4 que también recibió sólo blinatumomab como tratamiento.

5 La expansión de células T CD3⁺ se correlacionó con un número creciente de células T_{EM} CD3⁺, que se sabe que son citolíticas y que desempeñan un papel importante en la citotoxicidad mediada por blinatumomab contra las células B diana (Figura 3B). Nuevamente, el paciente con el evento adverso neurológico de grado 3 tuvo la proliferación más prominente de células T_{EM} CD3⁺ (Figura 3B; SG ≥ 30 meses sin tratamiento adicional). Además, la cinética de
10 disminución de células B CD19⁺ difirió entre pacientes con SG < 30 meses y aquellos con SG ≥ 30 meses con tratamiento adicional (Figura 3C). La disminución media de células B se completó el día 8, y se mantuvo durante los ciclos 1 y 2 de tratamiento en pacientes con SG ≥ 30 meses. Por el contrario, en pacientes con supervivencia global < 30 meses, la disminución media de células B duró 22 días, y no se mantuvo hasta el día 43 (el inicio del ciclo 2 de tratamiento).

15 Tabla 1. Características clínicas (supervivientes a largo plazo)

	Supervivientes a largo plazo (n = 10)
Edad, años	
Mediana	35
Intervalo	(21-72)
Terapia previa/estado de la enfermedad, n (%)	
SCT alogénico previo	4 (40)
Sin SCT alogénico previo	6 (60)
Refractario primario	2 (20)
Recuperación 1 después de la primera remisión completa	4 (40)
≤ 12 meses después del diagnóstico inicial	2 (20)
> 12 meses después del diagnóstico inicial	2 (20)
≥ 2 ^a recuperación	0 (0)
Blastos de médula ósea en el momento de la selección, %	
Mediana	56
Intervalo	(8-97)
SCT, trasplante de células madre. Los supervivientes a largo plazo se definieron como pacientes con una supervivencia ≥ 30 meses.	

Tabla 2. Respuestas y recaídas (supervivientes a largo plazo)

	Supervivientes a largo plazo (n = 10)
Mejor respuesta global al blinatumomab, n (%)	
CR	7 (70)
CRh	2 (20)
Médula ósea hipocelular	1 (10)
Respuesta de MRD (< 10 ⁻⁴) a blinatumomab, n (%)	10 (100)
SCT alogénico administrado después de blinatumomab, n (%)	
Sí	6 (60)
No	4 (40)
Recaída después de blinatumomab, n (%)	3 (30)
CD19 positivo	2 (20)
CD19-negativo	1 (10)
Retratamiento con blinatumomab	1 (10)
Retratamiento con quimioterapia	2 (20)
CR, remisión completa; CRh, CR con recuperación parcial de los recuentos de sangre periférica; SCT, trasplante de células madre; MRD, enfermedad residual mínima. Los supervivientes a largo plazo se definieron como pacientes con una supervivencia ≥ 30 meses.	

Tabla 3. Eventos neurológicos y síndrome de liberación de citocinas que conducen a la interrupción del tratamiento

Paciente No. *	Dosis de binatumomab (µg/m ² /día)	Ciclo	Evento adverso, grado CTCAE	Dosis de binatumomab al reinicio del tratamiento (µg/m ² /día)	Profilaxis	Respuesta	Vivo/En remisión†
1	15	1	Crisis epiléptica focal de grado 2	5	clobazam	CRh RFS: 17,5 mo SG: 38,6 mo CR	Si/Recalida
4	30	2	Encefalopatía de grado 3	5	No	RFS: 34,1 mo SG: 36,9 mo CRh	Si/Si
3	5	1	CRS de grado 4	5	Dexametasona pretráscar*	RFS: 22,4 mo SG: 30,0 mo	Si/Si

CR, remisión completa; CRh, CR con recuperación parcial de los recuentos sanguíneos periféricos; CRS, síndrome de liberación de citocinas; mo, meses. Los supervivientes a largo plazo se definieron como pacientes con una supervivencia ≥ 30 meses. *Paciente No. se refiere a los pacientes enumerados en la Tabla 1 Complementaria. †Vivo en el último seguimiento/estudio completado en remisión
*Hasta 24 mg de dexametasona por día durante hasta 5 días y/o 200 mg/m² de ciclofosfamida por día durante hasta 4 días antes de la infusión de binatumomab

Tabla 1 Complementaria. Características de los pacientes de los 10 supervivientes a largo plazo, tratamiento prefasico y respuesta a binatumomab. Características de los pacientes antes del tratamiento con binatumomab. Tratamiento prefasico. Respuesta a Binatumomab

Paciente No.	Cohorte*	Sexo	Recuperación o refractario primario	Tiempo hasta recaída, meses	SCT previo a recaída, meses	Edad, años	Conteo de blastos, %	LDH, U/l	Dexametasona/ ciclofosfamida	CRi/CRh	Respuesta de MRD	Recaída
1	2b	Mujer	NA	48,9	Si	38	86	408	Si / Si	Si (CRh)	Si	Si (CD19+)
2	3	Mujer	Refractario primario	-	No	29	9	217	Si / No	Si	Si	No
3	3	Hombre	Recuperación 1 recaída	21,9	No	44	90	199	Si / No	Si (CRh)	Si	No
4	2b	Mujer	Recuperación 1 recaída	22,0	No	72	61	187	No / No	Si	Si	No
5	3	Hombre	NA	26,9	Si	21	51	162	Si / Si	No	Si	No
6	3	Hombre	Refractario primario	-	No	57	19	161	Si / No	Si	Si	Si (CD19+)
7	3	Hombre	NA	23,9	Si	21	8	299	Si / Si	Si	Si	No
8†	2a	Mujer	Recuperación 1 recaída	6,4	No	66	8	246	No / No	Si (CRh)	Si	Si (CD19)
9	3	Mujer	Recuperación 1 recaída	8,5	No	32	78	772	Si / No	Si	Si	No
10	3	Hombre	NA	29,0	Si	29	97	135	Si / Si	Si	Si	No

CR, remisión completa ($\leq 5\%$ de blastos en la médula ósea, sin evidencia de blastos circulantes o enfermedad extramedular; plaquetas $> 100.000/\mu\text{l}$; hemoglobina $\geq 11 \text{ g/dl}$, y recuento absoluto de neutrófilos $> 1.500/\mu\text{l}$); CRh, CR con recuperación hematológica parcial de los recuentos de sangre periférica ($\leq 5\%$ de blastos en la médula ósea, sin evidencia de blastos circulantes o enfermedad extramedular;

plaquetas $> 50.000/\mu\text{l}$; hemoglobina $\geq 7 \text{ g/dl}$, y recuento absoluto de neutrófilos $> 500/\mu\text{l}$); SCT, trasplante de células madre; LDH, lactato deshidrogenasa; MRD, enfermedad residual mínima; NA, no aplicable

*Binatumomab se administró mediante infusión continua durante 4 semanas con intervalos de 2 semanas sin tratamiento. En las cohortes 2a y 3, los pacientes recibieron binatumomab $5 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ en la primera semana y después $15 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$. En la cohorte 2b, los pacientes recibieron $5 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ en la primera semana, $15 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ en la segunda semana, y después $30 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$

†Médula ósea hipocelular

‡Cromosoma Philadelphia positivo (desviación del protocolo)

DISCUSIÓN

Este análisis de seguimiento a largo plazo del análisis primario del primer estudio de fase 2 de blinatumomab en pacientes adultos con LLA de precursores B *r/r* demostró una mediana de SG de 13,0 meses con 32,6 meses de seguimiento. Estudios previos informaron que la quimioterapia da como resultado una mediana de SG de 8,4 meses o menos en pacientes con LLA *r/r*.¹⁻⁵ Los resultados publicados recientemente para inotuzumab ozogamicina, un conjugado de fármaco de anticuerpo monoclonal anti-CD22, en LLA *r/r*, informaron una mediana de SG de 7,3 meses con un esquema de dosificación semanal.¹² Un estudio previo informó que la SG con quimioterapia de rescate en LLA recidivante es más corta entre los pacientes que recaen después de un SCT alogénico.⁵ En el presente estudio, 15 de 36 pacientes (42%) habían recaído después de un SCT alogénico antes de recibir blinatumomab, pero no hubo diferencias en la SG entre los pacientes con y sin SCT alogénico previo.

En este análisis de seguimiento, 10 de 36 pacientes (28%) fueron supervivientes a largo plazo, definidos como una SG de ≥ 30 meses. Los 10 supervivientes a largo plazo tuvieron una respuesta de MRD, lo que dio como resultado una tasa de supervivencia a largo plazo del 40% en pacientes con una respuesta de MRD. Si bien se justifica la recopilación de conjuntos de datos más amplios, los resultados indican que el logro de una respuesta de MRD con el tratamiento con blinatumomab en LLA de precursores B *r/r* puede traducirse en un beneficio clínico en términos de supervivencia a largo plazo.

Cuatro supervivientes a largo plazo no recibieron SCT alogénico como consolidación para blinatumomab. Los cuatro pacientes siguen vivos. Uno de los cuatro pacientes tuvo una recaída CD19-negativa durante el tercer ciclo de blinatumomab, logró otra CR con quimioterapia, y recibió SCT alogénico como consolidación para la quimioterapia. Los otros tres pacientes no recibieron ningún otro tratamiento después de blinatumomab. Los tres pacientes experimentaron eventos adversos neurológicos o CRS que dieron como resultado la interrupción del tratamiento con blinatumomab. Se informaron toxicidades similares en un estudio de fase 1 de células T autólogas que expresaban el receptor de antígeno quimérico (CAR) 19-28z específico para el antígeno CD19,¹³ lo que sugiere que las toxicidades contra las células diana que expresan CD19 pueden ser comparables y posiblemente independientes del mecanismo de activación de las células T. Los resultados a largo plazo de estos tres pacientes ilustran que la supervivencia a largo plazo después del tratamiento con blinatumomab puede lograrse sin ningún otro tratamiento posterior incluso en casos de LLA recidivante. Los eventos adversos se manejaron mediante la interrupción de la infusión, y el reinicio de la infusión fue tolerado en los tres pacientes. Un paciente sin SCT alogénico como consolidación para blinatumomab tuvo una recaída CD19-negativa durante el tercer ciclo de tratamiento con blinatumomab. Este paciente logró otra remisión después de la quimioterapia. Es posible que el uso de blinatumomab para prolongar el intervalo entre regímenes de quimioterapia mejore la sensibilidad a la quimioterapia posterior. Se necesitan conjuntos de datos más grandes para confirmar esta observación. Los pacientes con recaída CD19-positiva después del tratamiento con blinatumomab también pueden ser candidatos para un nuevo tratamiento con blinatumomab. Un superviviente a largo plazo en este estudio que recayó dos veces respondió al nuevo tratamiento con blinatumomab en ambas ocasiones. Por lo tanto, el tratamiento con blinatumomab podría ser una alternativa a la quimioterapia para el tratamiento de las recaídas después de una CR inducida por blinatumomab seguido de un tratamiento de mantenimiento con blinatumomab. Sin embargo, se requieren investigaciones adicionales para confirmar la actividad y la tolerabilidad del retratamiento con blinatumomab en este contexto.

Los supervivientes a largo plazo tuvieron un grado significativamente mayor de expansión de células T y células T_{EM} durante los ciclos de tratamiento 1 y 2. Los datos sugieren que la expansión de células T podría ser un factor clave para la actividad antileucémica de blinatumomab en el contexto de la LLA *r/r*. Se ha observado que el inicio de los efectos antileucémicos después de la infusión de blinatumomab ocurre temprano durante el tratamiento, en la mayoría de los casos a más tardar al final del primer ciclo. En el caso de los pacientes que no respondieron, añadir ciclos adicionales de tratamiento o aumentar la dosis de blinatumomab en el segundo ciclo tuvo poco efecto en la mejora de la actividad antileucémica.⁹ En el estudio actual, un aumento de la dosis a 30 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ el día 15 del primer ciclo no dio como resultado una mayor tasa de CR (datos no mostrados). Los resultados de nuestro estudio sugieren que la expansión de células T y la cinética de la eliminación de células B periféricas podrían ser importantes no sólo para la remisión sino también para la SG a largo plazo. Una supervivencia general de al menos 30 meses se asoció con una mayor expansión de células T, en comparación con una SG de menos de 30 meses. La mayor expansión de células T en los supervivientes a largo plazo se asoció con una eliminación completa de células B de la sangre periférica dentro de los primeros 7 días de tratamiento con blinatumomab. Se podría especular que el grado de disminución de células B dentro de los primeros 7 días de tratamiento podría servir como un indicador temprano de la eficacia de blinatumomab, posiblemente permitiendo un ajuste temprano del régimen de blinatumomab mediante un aumento de la dosis.

En conclusión, en este análisis de seguimiento a largo plazo de un estudio exploratorio de fase 2 de aumento de dosis de blinatumomab en pacientes adultos con LLA de precursores B *r/r*, una respuesta de MRD a blinatumomab se asoció con una SG significativamente más prolongada. Diez pacientes (28%) que recibieron blinatumomab alcanzaron una SG ≥ 30 meses, y se consideraron supervivientes a largo plazo. Todos los supervivientes a largo plazo tuvieron una respuesta de MRD. Los supervivientes a largo plazo también tuvieron una eliminación más rápida de las células B periféricas y una expansión de células T significativamente mayor. Los datos sugieren que la supervivencia a largo

plazo después del tratamiento con blinatumomab está asociada con una respuesta de MRD y potencialmente también con un alto grado de expansión de células T.

REFERENCIAS

5

1. Tavernier E, Boiron JM, Huguet F, et al. Outcome of treatment after first relapse in adults with acute lymphoblastic leukemia initially treated by the LALA-94 trial. *Leukemia*. 2007;21(9):1907-1914.

10

2. Oriol A, Vives S, Hernández-Rivas JM, et al. Outcome after relapse of acute lymphoblastic leukemia in adult patients included in four consecutive risk-adapted trials by the PETHEMA Study Group. *Haematologica*. 2010;95(4):589-596.

15

3. Fielding AK, Richards SM, Chopra R, et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood*. 2007; 109(3):944-950.

20

4. Kantarjian HM, Thomas D, Ravandi F, et al. Defining the course and prognosis of adults with acute lymphocytic leukemia in first salvage after induction failure or short first remission duration. *Cancer*. 2010;116(24):5568-5574.

25

5. Gökbüget N, Stanze D, Beck J, et al. Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors, and performance of stem cell transplantation. *Blood*. 2012;120(10):2032-2041.

30

6. Nagorsen D, Baeuerle PA. Immunomodulatory therapy of cancer with T cell-engaging BiTE antibody blinatumomab. *Exp Cell Res*. 2011;317(9):1255-1260.

35

7. Topp MS, Gökbüget N, Zugmaier G, et al. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2014;32(36):4134-4140.

40

8. Topp MS, Gokbuget N, Stein AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2015;16(1):57-66.

45

9. Topp MS, Kufer P, Gökbüget N, et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol*. 2011;29(18):2493-2498.

50

10. National Cancer Institute. NCI Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0. Bethesda, MD; 2014.

55

11. Bargou R, Leo E, Zugmaier G, et al. Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody. *Science*. 2008;321(5891):974-977.

12. Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, et al. Results of inotuzumab ozogamicin, a CD22 monoclonal antibody, in refractory and relapsed acute lymphocytic leukemia. *Cancer*. 2013;119(15):2728-2736.

13. Davila ML, Riviere I, Wang X, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med*. 2014;6(224):224ra225.

14. Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, et al. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med*. 2013;5(177):177ra138.

15. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2013;368(16):1509-1518.

16. Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood*. 2012;119(12):2709-2720.

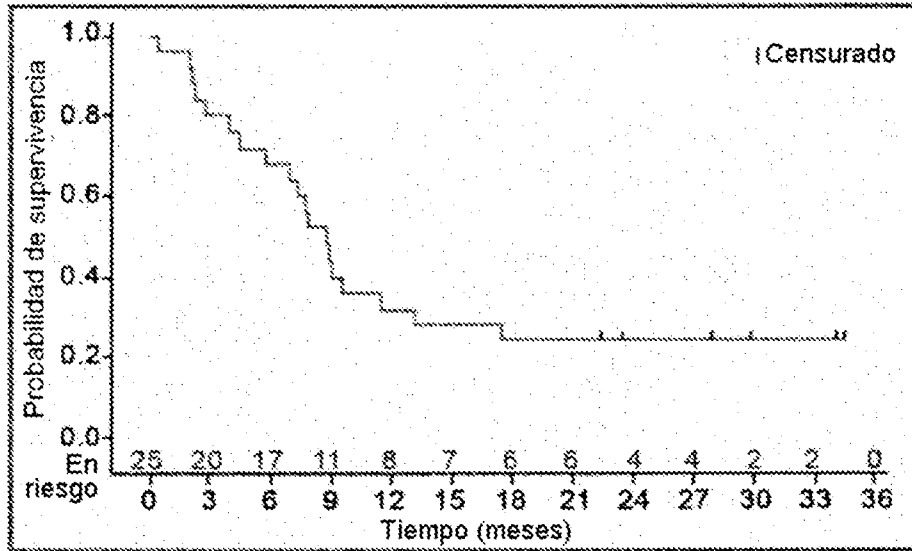
REIVINDICACIONES

- 5 1. Un agente de disminución de células B capaz de reducir las células B CD19+ periféricas, para uso en un método para conservar o aumentar el número de supervivientes a largo plazo en un grupo de pacientes que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B adultos recidivante/refractaria, comprendiendo dicho método (a) administrar un agente de disminución de células B, (b) observar dentro de un primer período de tiempo predefinido que comienza con el primer día de tratamiento inicial con el agente de disminución de células B el número de células B en la sangre de dicho paciente, y (c) ajustar el régimen de tratamiento o la dosis de dicho agente de disminución de células B de manera que el número de células B en la sangre de los pacientes de dicho grupo caiga por debajo de una célula B/ml
- 10 de suero dentro de un segundo período de tiempo predefinido de 8 días después del tratamiento inicial con dicho agente de disminución de células B, en el que el primer período de tiempo predefinido es más corto que el segundo período de tiempo predefinido, en el que dicho agente de disminución de células B es Blinatumomab y dichos supervivientes a largo plazo están vivos durante ≥ 30 meses después de comenzar el tratamiento con Blinatumomab.

Figura 1

A

Supervivencia libre de recaídas (todos los pacientes)



B

Supervivencia general (SG) con y sin censura para respuesta de MRD (todos los pacientes)

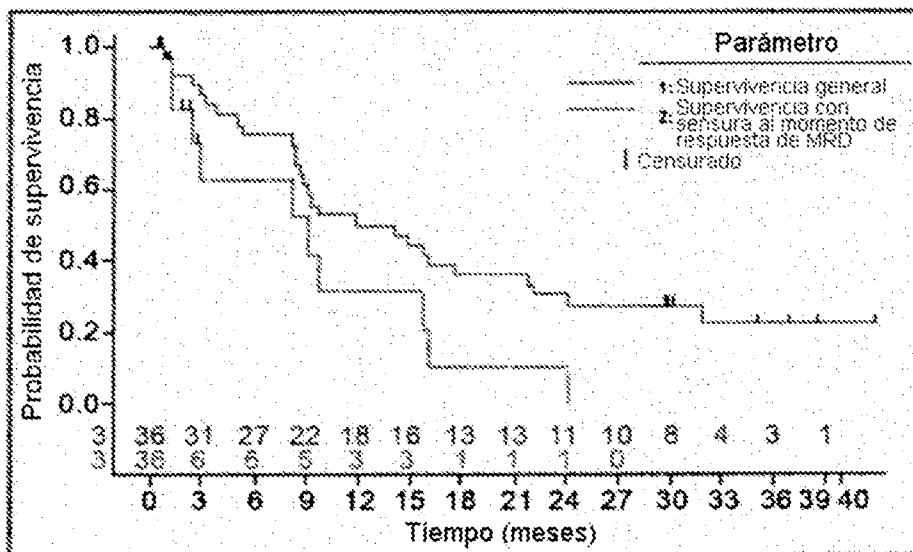


Figura 2

MT103-206: Supervivencia general mediante el estado de HSCT previo
 Todos los pacientes

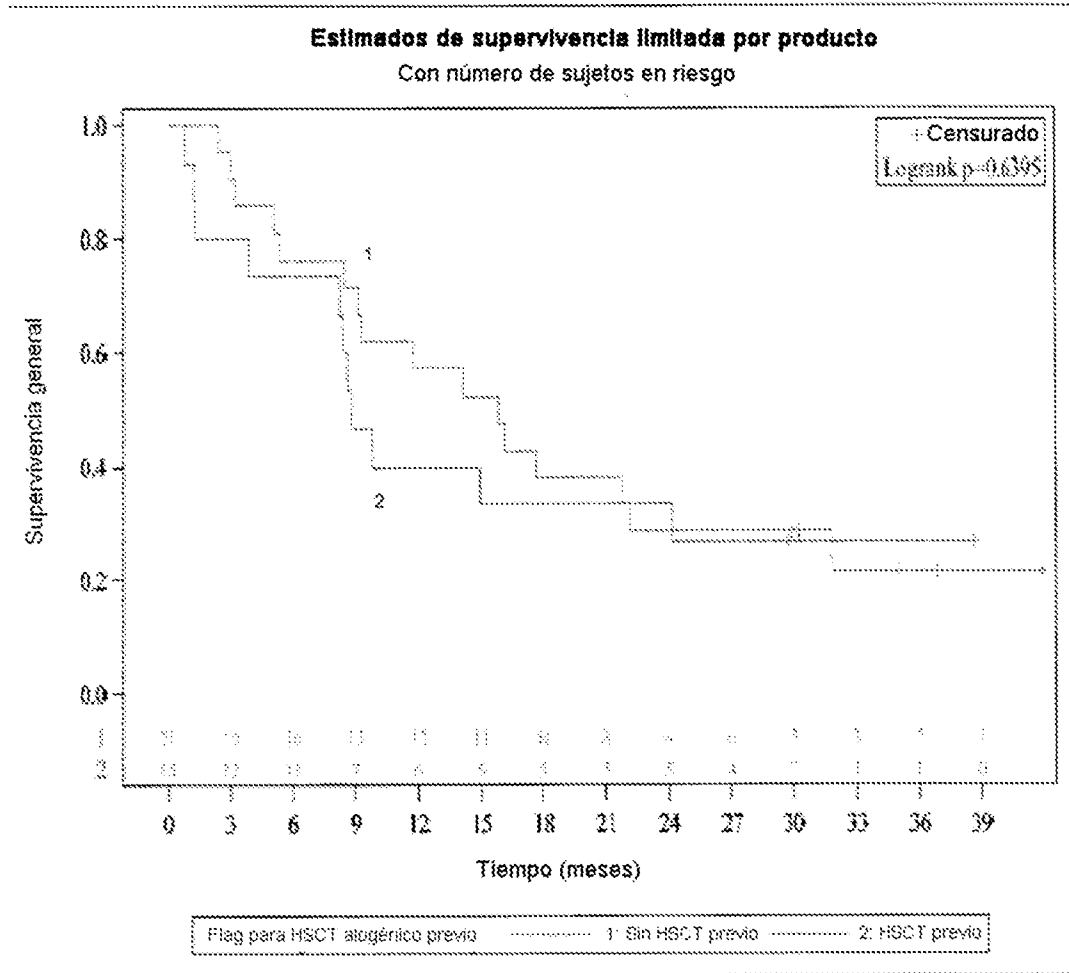


Figura 3

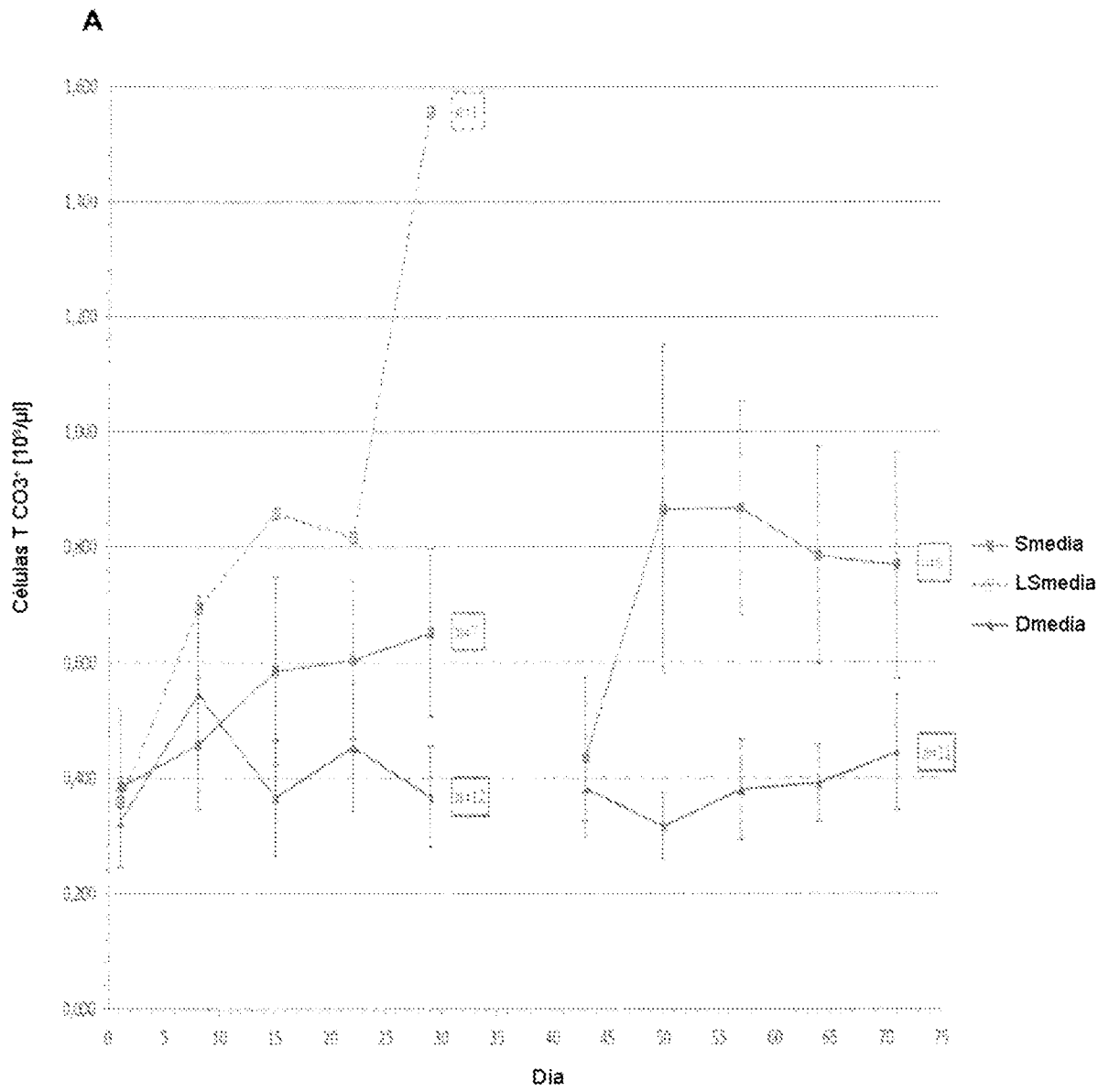


Figura 3 (continuación)

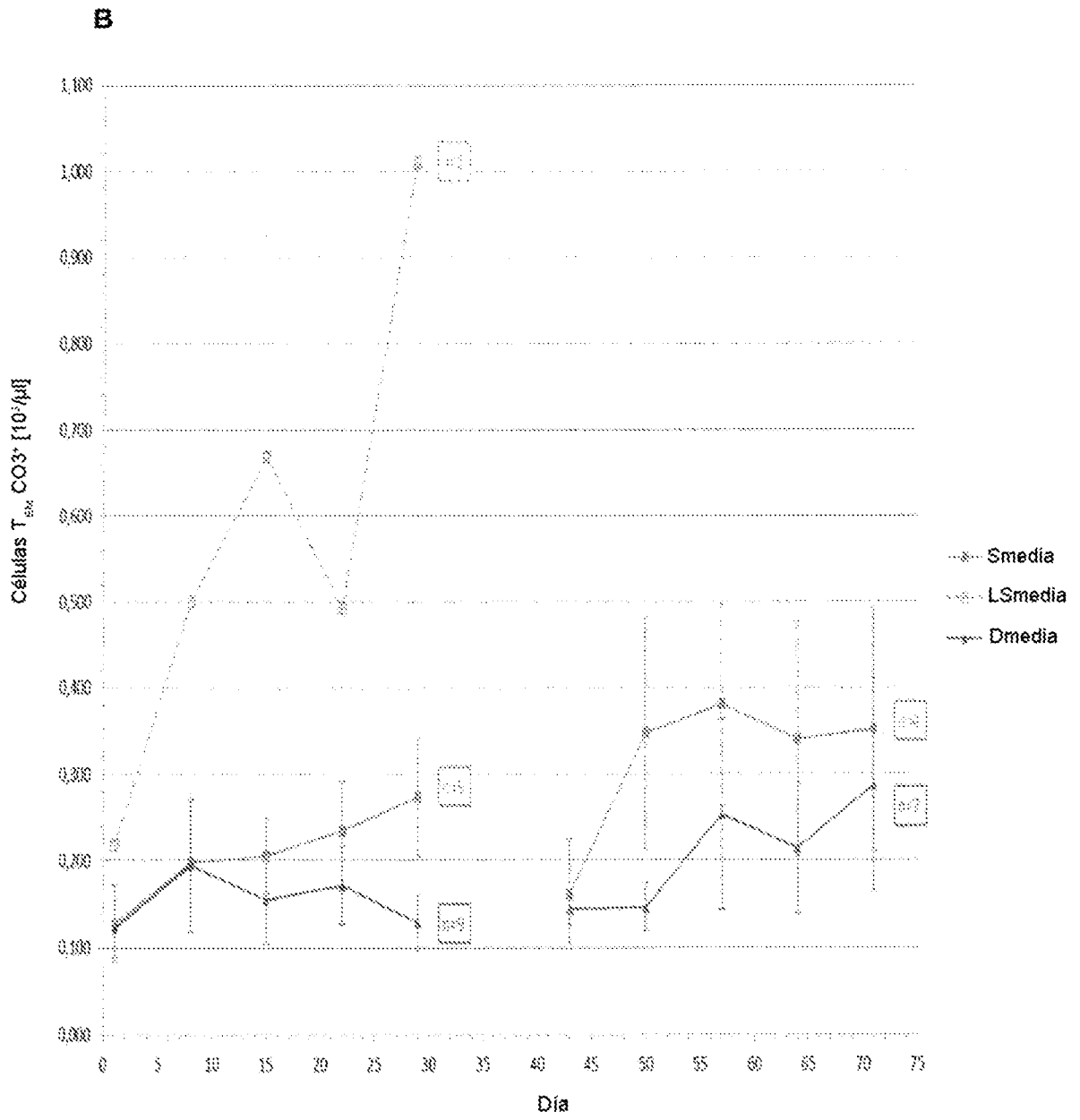


Figura 3 (continuación)

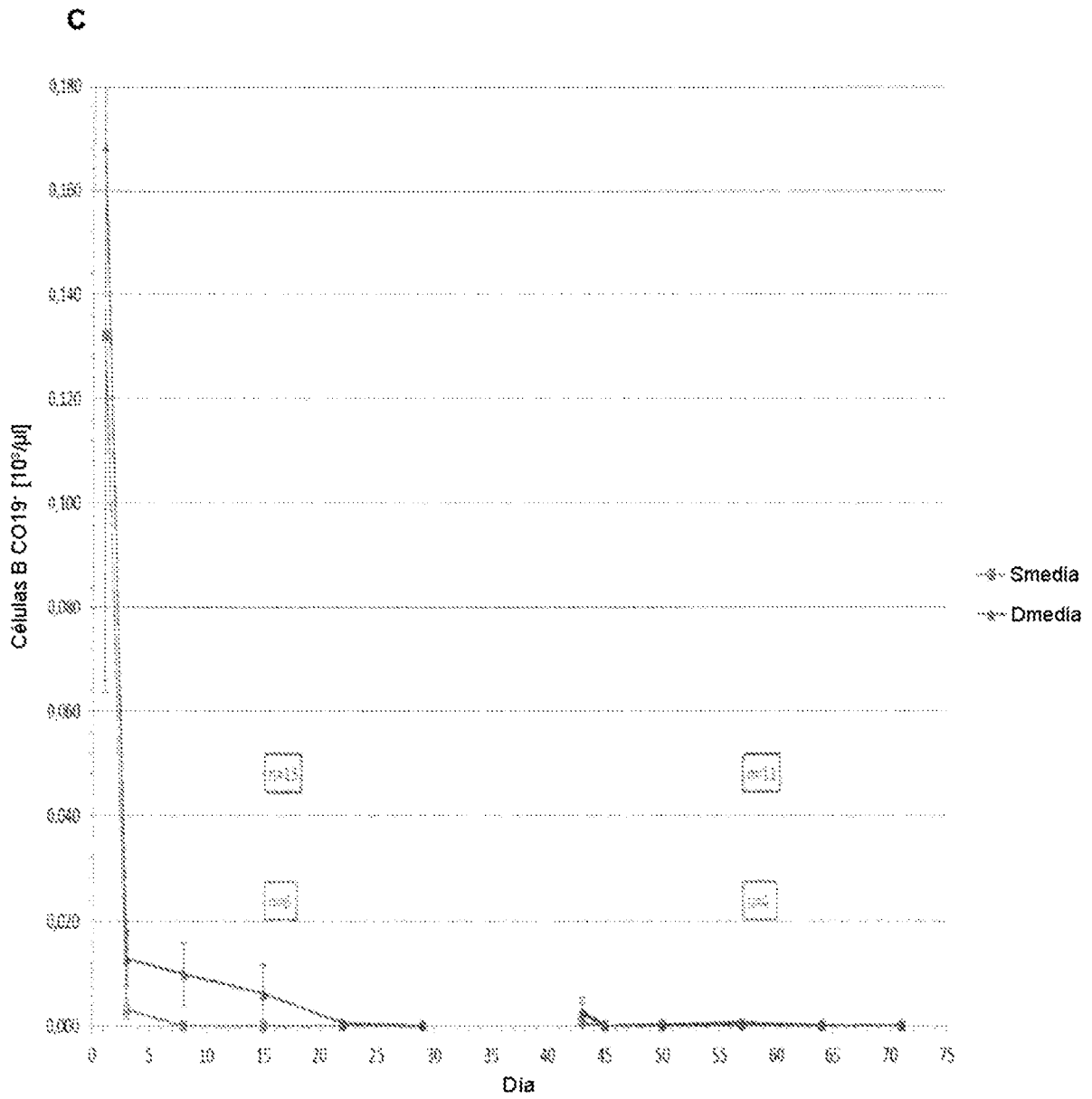


Figura 4

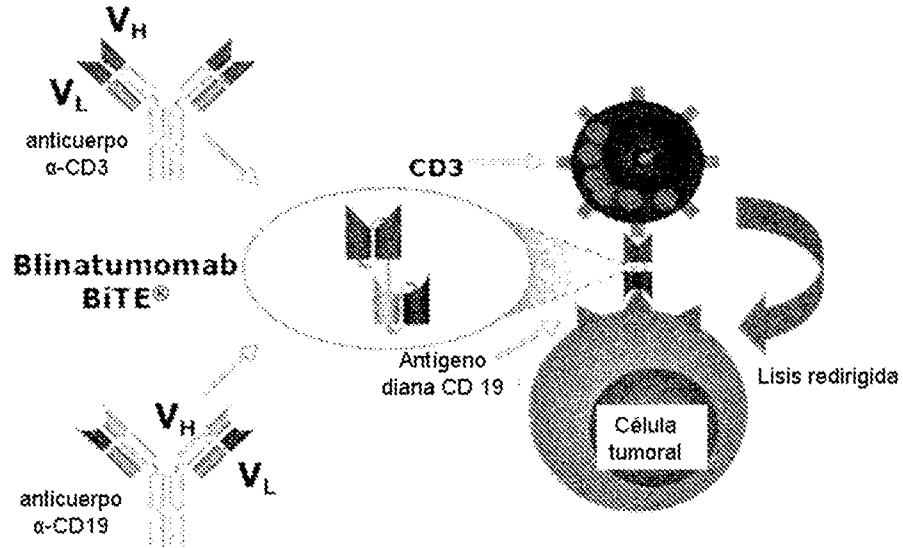
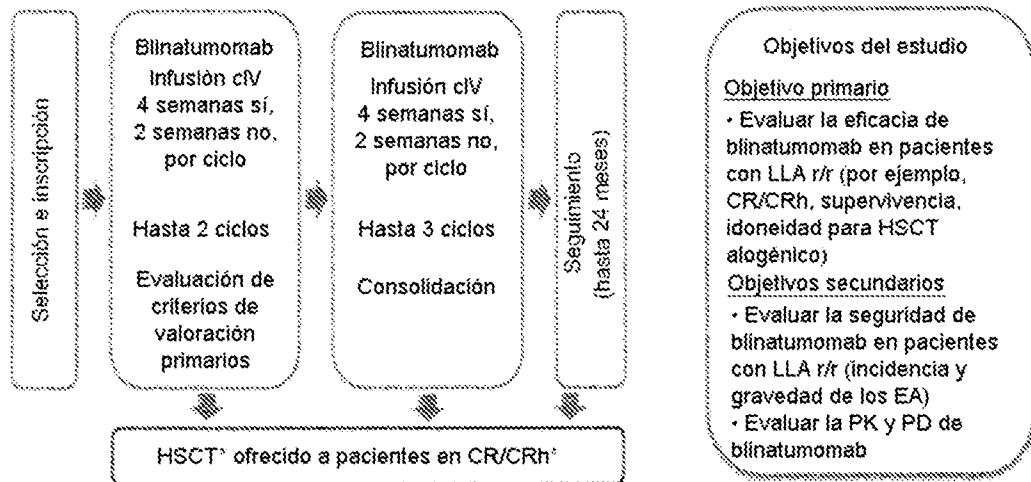


Figura 5

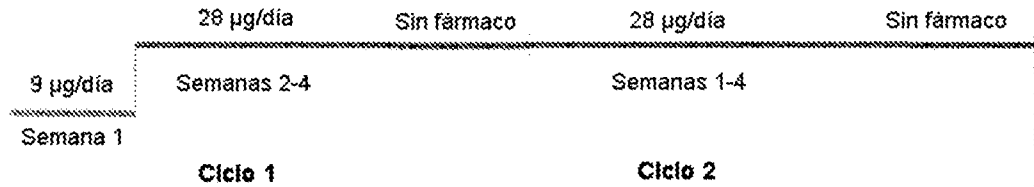
Esquema de estudio: Estudio de Fase 2 Pivotal (MT103-211)



*civ - intravenosa continua; HSCT = trasplante de células madre hematopoyéticas CR/CRh (remisión completa/CR con recuperación hematológica parcial); 5% de blastocitos en la médula ósea, sin signos de enfermedad, recuperación completa o parcial de recuentos de sangre periférica (plaquetas > 50.000/μl y ANC > 500/μl).

Figura 6

Esquema de dosificación de blinatumomab



• Ciclos 1-2

- Ciclo 1: 9 µg/día en la semana 1; 28 µg/día en las semanas 2-4
- Ciclo 2: 28 µg/día en las semanas 1-4

• Ciclos 3-5

- Los pacientes que lograron CR/CRh en el ciclo 2 podrían recibir hasta 3 ciclos adicionales de tratamiento, a 28 µg/día en las semanas 1-4 cada ciclo

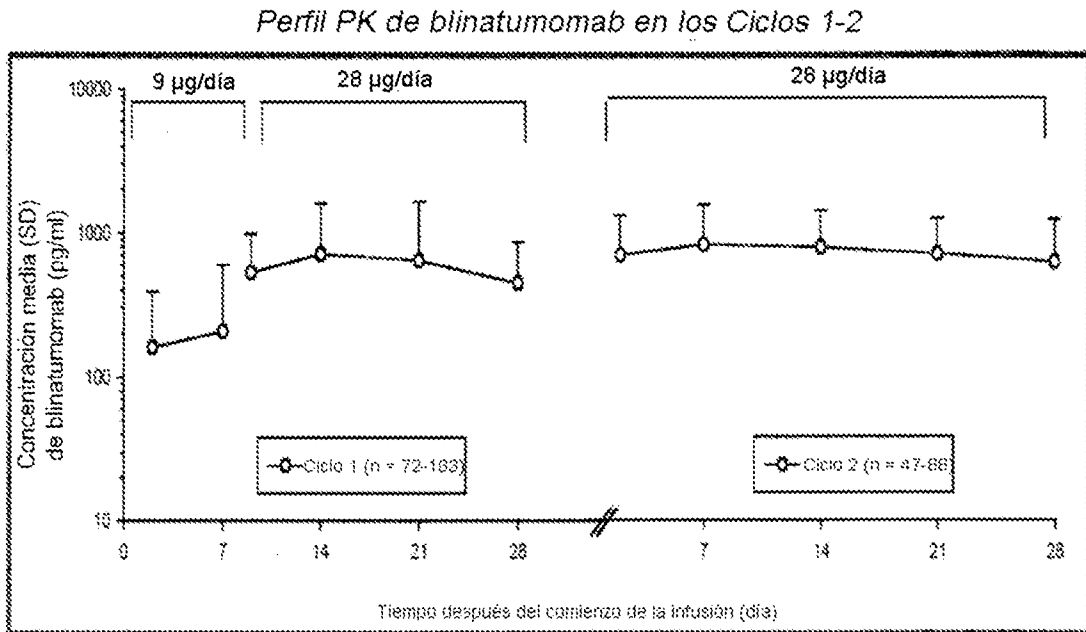
Figura 7

Covariables evaluadas

Demografía	Edad, peso corporal, y sexo
Recuentos sanguíneos en el valor de inicio	Hemoglobina Leucocitos Plaquetas Blastocitos periféricos en sangre Células B CD19 Células T CD3
Médula ósea en el valor de inicio	Porcentaje de blastocitos
Citocinas en el ciclo 1	Nivel máximo de interferón-γ (IFN-γ) Nivel máximo de interleucina-6 (IL-6) Nivel máximo de interleucina-10 (IL-10)
Enfermedad/tratamiento previo	Refractario primario a terapia de primera línea Número de terapias de rescate previas Número de recaídas previas Recaída temprana (duración de la remisión ≤ 12 meses) Anomalías citogenéticas

Figura 8

Farmacocinética



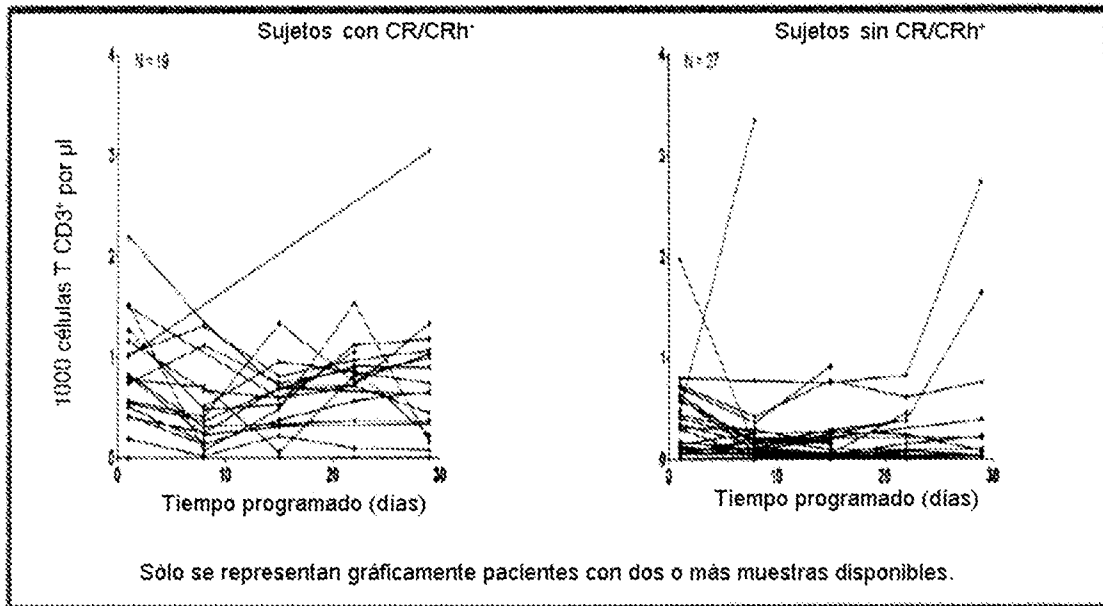
- La PK de blinatumomab fue lineal, y CSS fue estable en el tiempo
 - En el ciclo 1, la C_{ss} media (SD) a 9 µg/día fue 211 (258) µg/ml, y la C_{ss} a 28 µg/día fue 621 (502) µg/ml
 - La C_{ss} media a 28 µg/día fue mayor que la EC_{90} de 470 µg/ml determinada in vitro

Figura 9

A

Farmacodinámica

Perfiles de tiempo de células T CD3⁺ en el ciclo 1

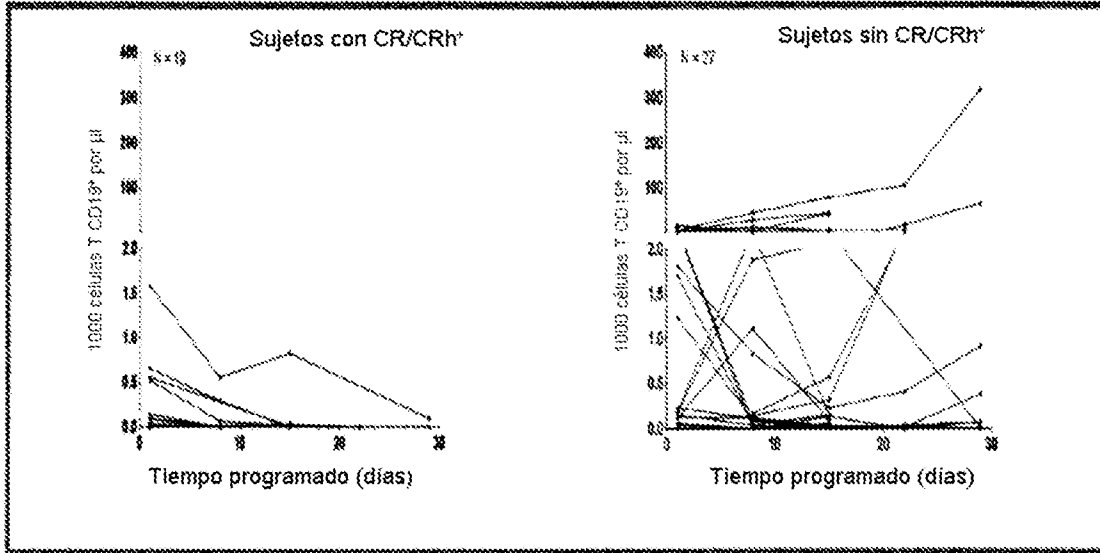


• Los perfiles de tiempo de células T CD3⁺ periféricas fueron similares en pacientes con y sin CR/CRh

Figura 9 (continuación)

B

Perfiles de tiempo de células B CD19+ en el ciclo 1



- Los recuentos medios de células B periféricas disminuyeron de 4660 hasta ≤ 10 células B/ μ l en el ciclo 1 en la mayoría de los pacientes
- Todos los pacientes con CR/CRh mostraron una disminución rápida de células B periféricas
- La mayoría de los pacientes sin CR/CRh mostraron disminución de células B periféricas, pero unos pocos pacientes, especialmente aquellos con recuentos de células B muy altos antes del tratamiento, no mostraron disminución de células B periféricas

Figura 10

Perfiles de citocinas

Tiempo Ciclo/semana	Dosis µg/día	Número de pacientes	C _{max} (pg/ml) IL-6	C _{max} (pg/ml) IL-10	C _{max} (pg/ml) IFN-γ
C1/W1	9	184	826 ± 2390	589 ± 822	93.1 ± 409
C1/W2	28	175	234 ± 681	95.7 ± 136	27.4 ± 83.1
C2/W1	28	95	315 ± 952	397 ± 633	22.8 ± 45.8
C3/W1	28	41	69.2 ± 114	428 ± 94	21.6 ± 27.6

- Hubo una gran variabilidad entre pacientes en los niveles de citocinas
- IL-6, IL-10, e IFN-γ:
 - Transitoriamente elevadas en los días 1-2 de la primera semana a una dosis de blinatumomab de 9 µg/día
 - Menos elevadas en los últimas semanas a una dosis de blinatumomab de 28 µg/día
 - IL-6, IL-10, e IFN- γ se elevaron por encima del limite inferior de cuantificación (125 pg/ml) en el 63%, 76%, y 14% de pacientes, respectivamente
- TNF-α, IL-2, e IL-4: cambios insignificantes desde el valor de inicio (no mostrado)

Figura 11

Subconjuntos de linfocitos/leucocitos y CR/ORh

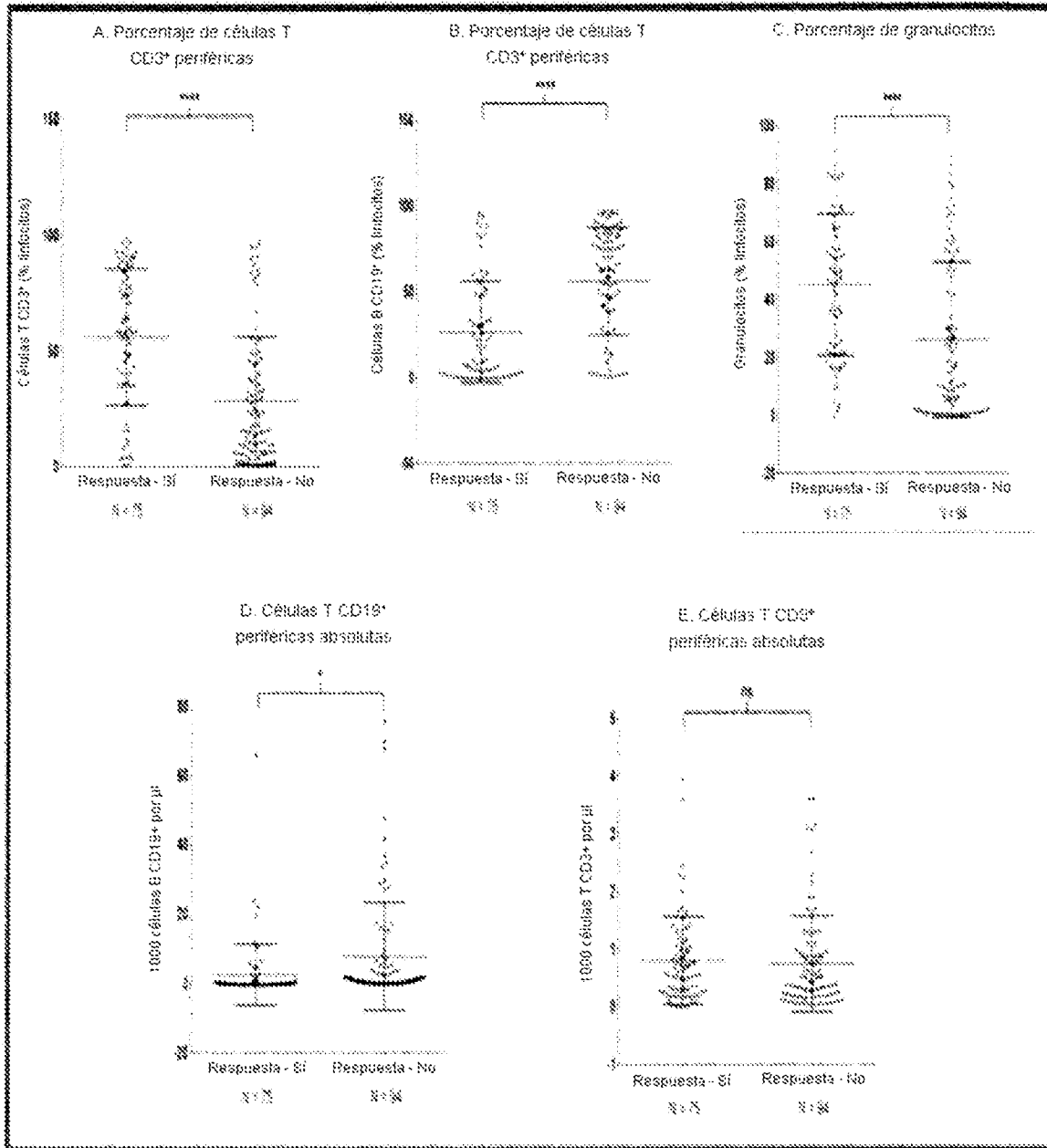


Figura 11 (continuación)

- Las siguientes medidas en el momento de la selección estaban asociadas con una mayor probabilidad de CR/CRh
 - Mayor cantidad de células T CD3⁺ como un porcentaje de linfocitos totales (A)
 - Menor cantidad de células B CD19⁺ como un porcentaje de linfocitos totales (B)
 - Mayor cantidad de granulocitos como un porcentaje de leucocitos totales (C)
 - Menores recuentos de células B CD19⁺ absolutas (D)
 - Menor porcentaje de blastocitos en la médula ósea (no mostrado)
- Las siguientes medidas en el momento de la selección no estaban asociadas con una mayor probabilidad de CR/CRh
 - Recuentos de células T CD3⁺ absolutas
 - Relación células B/células T (no mostrado)

Figura 12

Exposición a blinatumomab y CR/CRh

Análisis univariante	Relación de momios (IC del 95%)	Valor de P
C _{ss} de dosis de 28 µg/día (por log[pg/ml]) en el ciclo 1	2.93 (1.79, 4.79)	<0.001
Análisis multivariante	Relación de momios (IC del 95%)	Valor de P
C _{ss} de dosis de 28 µg/día (por log[pg/ml]) en el ciclo 1	1.90 (1.12, 3.21)	0.017
C _{max} de IL-10 (por log[pg/ml]) en ciclo 1	1.59 (1.13, 2.22)	0.007
Porcentaje de valor de inicio de blastocitos en médula ósea (por 10%)	0.78 (0.69, 0.89)	<0.001

- Entre los 160 pacientes con C_{ss} disponibles a la dosis de 28 µg/día, 46,3% lograron CR/CRh
- Análisis univariante:
 - Una C_{ss} más alta se asoció con aparición de CR/CRh
- Análisis multivariante:
 - Una mayor C_{ss}, mayores niveles máximos de IL-10, y un menor porcentaje de blastocitos en médula ósea en la selección estaban asociados con la aparición de CR/CRh
 - Otras covariables probadas no estaban asociadas significativamente con la aparición de CR/CRh

Figura 13

Exposición a blinatumomab y tiempo hasta CR/CRh

Análisis univariante	Cociente de riesgo (IC del 95%)	Valor de P
C _{ss} de dosis de 28 µg/día (por log[pg/ml]) en el ciclo 1	1.65 (1.26, 2.34)	<0.005
Análisis multivariante	Cociente de riesgo (IC del 95%)	Valor de P
Relación células B/células T	0.86 (0.77, 0.96)	0.006
Porcentaje de valor de inicio de blastocitos en médula ósea (por 10%)	0.91 (0.84, 0.98)	0.02

- La mediana del tiempo hasta CR/CRh fue 29 días
- Análisis univariante:
 - Una C_{ss} más alta se asoció con un tiempo más corto hasta CR/CRh
- Análisis multivariante:
 - Una menor relación de células B/células T y un mayor porcentaje de blastocitos en médula ósea en la selección estaban asociados con un tiempo más corto para la CR/CRh
 - Otras covariables probadas no estaban asociadas significativamente con la aparición de CR/CRh

Figura 14

Exposición a blinatumomab y tiempo hasta el primer evento neurológico

Análisis univariante (n = 132)	Cociente de riesgo (IC del 95%)	Valor de P
C _{ss} de dosis de 9 µg/día (por log[pg/ml]) en el ciclo 1	1.97 (1.14, 3.38)	0.015
Análisis multivariante (n = 135)	Cociente de riesgo (IC del 95%)	Valor de P
C _{ss} a dosis de 9 µg/día (por log[pg/ml]) en el ciclo 1	2.14 (1.17, 3.90)	0.013
Más de 2 terapias de rescate previas	6.09 (1.76, 21.1)	0.004
Sin anomalías citogenéticas	0.34 (0.13, 0.92)	0.034
C _{max} de IL-10 (por log[pg/ml]) en el ciclo 1	1.74 (1.11, 2.73)	0.016

- La mediana del tiempo hasta el comienzo del primer evento neurológico fue 11 días
- Análisis univariante:
 - Una mayor C_{ss} estaba asociada con un tiempo más corto hasta el comienzo del primer evento neurológico
- Análisis multivariante:
 - Una mayor C_{ss}, mayores niveles máximos de IL-10, más de 2 terapias de rescate previas, y anomalías citogenéticas estaban asociados con un tiempo más corto hasta el comienzo del primer evento neurológico
 - Otras covariables probadas no estaban asociadas significativamente con el tiempo de comienzo del primer evento neurológico

Figura 15

Exposición a blinatumomab y CRS

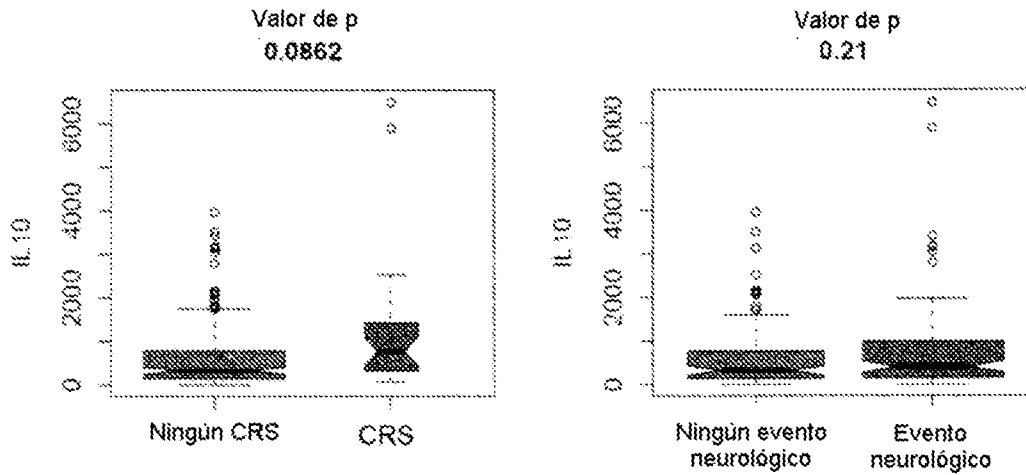
Análisis univariante (n = 132)	Relación de momios (IC del 95%)	Valor de P
C _{ss} de dosis de 9 µg/día (por log[pg/ml]) en el ciclo 1	1.22 (0.59, 2.51)	0.59

- CRS se produjo al comienzo del tratamiento; la mediana del tiempo desde el inicio del tratamiento hasta el inicio de CRS fue 2 días
- El comienzo de los eventos de CRS coincidió frecuentemente con los niveles máximos de citocinas
- La incidencia general de los eventos de CRS fue 9,85% entre los 132 pacientes que tuvieron valores de C_{ss} de blinatumomab estimados para la dosis de 9 µg/día
- La C_{ss} de blinatumomab no estaba asociada con la aparición de CRS
- El análisis multivariante no se llevó a cabo debido a que no hubiera sido informativo; sólo permanecieron 11 eventos de CRS después de ajustar las covariables perdidas

Figura 16

A

Los niveles máximos de IL-10 fueron similares en pacientes con y sin CRS o eventos neurológicos



B

Los niveles máximos de IL-6 fueron similares en pacientes con y sin CRS o eventos neurológicos

