

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 933 256**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.08.2018** **PCT/EP2018/071462**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.02.2019** **WO19030260**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.08.2018** **E 18755421 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.10.2022** **EP 3665196**

54 Título: **Tratamiento con obinutuzumab de un subgrupo de pacientes con LDLBG**

30 Prioridad:

08.08.2017 US 201762542489 P

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

03.02.2023

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (50.0%)
Grenzacherstrasse 124

4070 Basel, CH y
NANOSTRING TECHNOLOGIES, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

OESTERGAARD, MIKKEL ZAHLE

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 933 256 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

Tratamiento con obinutuzumab de un subgrupo de pacientes con DLBGB

La presente invención se refiere a obinutuzumab (o sus equivalentes funcionales) para su uso en el tratamiento de un paciente con DLBGB definido por biomarcador particular y un subgrupo de pacientes con DLBGB novedoso, respectivamente. Además, en el presente documento se divulga un procedimiento para tratar DLBGB con obinutuzumab (o sus equivalentes funcionales) en un paciente que lo necesita, en el que dicho paciente es un paciente con DLBGB definido por biomarcador particular o pertenece a un subgrupo de pacientes con DLBGB definido por biomarcador novedoso. En el presente documento se divulga además el uso de obinutuzumab (o sus equivalentes funcionales) para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de DLBGB en el paciente con DLBGB definido por biomarcador particular/subgrupo de pacientes con DLBGB novedoso. La presente invención se refiere además a un procedimiento para identificar a un paciente con DLBGB particular/subgrupo de pacientes con DLBGB novedoso y un procedimiento para diagnosticar una forma novedosa de DLBGB y un paciente con DLBGB particular/subgrupo de pacientes con DLBGB novedoso, respectivamente, en los que, en el contexto de dichos procedimientos, se debe determinar usando una muestra (tumoral) de un paciente si dicho paciente es dicho paciente con DLBGB definido por biomarcador particular y pertenece a dicho subgrupo de pacientes con DLBGB novedoso, respectivamente.

El linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBGB) es el tipo más común de linfoma no hodgkiniano (LNH) agresivo. La inmunoterapia con el anticuerpo monoclonal (mAb) anti-CD20 rituximab (R), más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), es el tratamiento de referencia para pacientes sin tratamiento previo que presentan enfermedad en estadio avanzado (Coiffier, *N. Engl. J. Med.* 346, 2002, 235-242; Tilly, *Ann. Oncol.* 26, 2015, v116-v125 (suppl 5); NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Non-Hodgkin's Lymphomas, Version 3. 2016; véase también www.NCCN.org). Los estudios han mostrado una tasa de respuesta completa y completa no confirmada (RC/RCnc) de un 76 % (ensayo GELA) (Coiffier *loc. cit.*), y una tasa de supervivencia sin fracaso a los 2 años de un 77 % (Habermann, *J. Clin. Oncol.* 24, 2006, 3121-3127). Aunque el tratamiento de primera línea (1L) para DLBGB es curativo para muchos pacientes (Maurer, *J. Clin. Oncol.* 32, 2014, 1066-1073), todavía es necesario mejorar el resultado para un 20-40 % de los pacientes que no logran una remisión o que recaen, y los resultados con un tratamiento de último recurso siguen siendo deficientes (Sehn, *Blood* 125, 2015, 22-32).

Obinutuzumab (Gazyva™/Gazyvaro™ GA101; G) es un mAb anti-CD20 de tipo II glucomanipulado con mayor inducción de muerte celular directa y citotoxicidad celular y fagocitosis dependientes de anticuerpos que R (Herter, *Mol. Cancer Ther.* 12, 2013, 2031-2042; Mössner, *Blood* 115, 2010, 4393-4402; documentos EP-B1 2380910; WO 2005/044859; véase también Illidge, *Expert Opin. Biol. Ther.* 12(5), 2012, 543-5). Las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de la cadena pesada y ligera de G también son conocidas del documento WO2017/097723. En estudios de fase 3 de pacientes sin tratamiento previo con leucemia linfocítica crónica (LLC) y afecciones coexistentes (LLC11), o linfoma folicular (LF; GALLIUM), G demostró ser más eficaz que R (Goede, *N. Engl. J. Med.* 370, 2014, 1101-1110 Marcus, *N. Engl. J. Med.* (aceptado en mayo de 2017: en prensa). En estudios más pequeños, la monoterapia G y G-CHOP han demostrado ser prometedores en formas agresivas de linfoma no hodgkiniano (LNH), incluyendo DLBGB (Morschhauser, *J. Clin. Oncol.* 31, 2013, 2912-2919; Zelenetz, *Blood* 122, 2013, 1820). También Owen (Expert Opin. Biol. Ther. 12(3), 2012, 343-51) analiza el uso de Obinutuzumab para el tratamiento de trastornos linfoproliferativos. Zelenetz (*Blood* 128(22), 2016, 3032) analiza resultados comparables en un estudio de fase Ib de Venetoclax más R- o G-CHOP en pacientes con linfoma no hodgkiniano de linfocitos B. Un estudio multicéntrico, abierto, aleatorizado, clínico de fase 3 (GOYA; véase a continuación para más detalles) comparó la eficacia y seguridad de G-CHOP con R-CHOP en pacientes con DLBGB sin tratamiento previo (véase Vitolo, *Blood* 128(22), 2016, 470). Sin embargo, en GOYA, G-CHOP no mejoró el resultado clínico (por ejemplo, supervivencia sin progresión (SSP)) en relación con R-CHOP en DLBGB sin tratamiento previo (DLBGB 1L) con respecto al grupo completo de pacientes con DLBGB 1L que inicialmente estaba destinado a tratarse en el contexto de GOYA.

Lenz (*Proc Natl Acad Sci USA* 105(36), 2008, 13520-5) ha identificado subtipos moleculares de DLBGB por la determinación del estado de la célula de origen (CDO) usando perfiles de expresión génica. Scott (*Blood* 123(8), 2014, 1214-7; *JCO* 33(26), 2015, 2848 57; *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book* 2015, 35:e458-66) y otros (Nowakowski, *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book* 2015, 35:e449-57) realizaron una determinación basada en expresión génica de subtipos CDO de DLBGB usando el ensayo NanoString Lymph2Cx (Scott 2014 y 2015 *loc. cit.*). En particular, Scott (2014 y 2015 *loc. cit.*) asignó los subtipos CDO de DLBGB, DLBGB similar a linfocitos B del centro germinativo (DLBGB BCG), DLBGB similar a linfocitos B activados (DLBGB LBA) y DLBGB no clasificado, en base a un ensayo de expresión génica de 20 genes y puntuaciones de factor pronóstico lineal (*Linear Predictor Score*, LPS) de ~ <1900, ~ 1900 - ~2450 y ~ >2450, respectivamente, (véase Scott 2014 *loc. cit.*, fig. 1). Scott (2014 y 2015 *loc. cit.*) también evaluó el efecto del tratamiento de R-CHOP en estos subtipos CDO de DLBGB. Wright (*PNAS* 100(17), 2003, 9991-6) formuló una prueba diagnóstica basada en expresión génica para la clasificación de subgrupos de DLBGB biológica y clínicamente distintos.

Punnoose (*Blood* 126, 2015, 3971; véase también <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/3971>) describe la

prevalencia y el valor pronóstico de la expresión de proteínas BCL2 y MYC dentro de los subtipos CDO LBA y BCG en pacientes con DLBGL sin tratamiento previo de MAIN, un ensayo de fase III que evaluó bevacizumab más R-CHOP (NCT 00486759).

- 5 Challa-Malladi (Cancer Cell 20, 2011, 728-40) divulga que la inactivación genética combinada de β 2-microglobulina y CD58 revela una resistencia frecuente del reconocimiento inmunitario en DLBGL.

10 Dubois (Clin Cancer Res 22(12), 2016, 2919-28) analiza la secuenciación de segunda generación en DLBGL y la divergencia molecular de LBA, BCG y el linfoma de linfocitos B mediastínico primario (PMBL). Cartron (Blood 130(5), 2017, 581-9) analiza los ensayos clínicos sobre el uso de G en el contexto de LLC, linfoma folicular (LF) y DLBGL. Tomita (J Clin Exp Hematop 56(2), 2016, 89-99) analiza la modulación genética y epigenética de la expresión de CD20 en neoplasias malignas de linfocitos B y sus mecanismos moleculares e importancia para la resistencia a R.

15 A pesar del éxito previo en el tratamiento de DLBGL (por ejemplo, debido a los avances con R, en particular R-CHOP), sin embargo, todavía existe una alta necesidad médica no cubierta para algunos pacientes con DLBGL (véase NCCN clinical practice guidelines in oncology; non-Hodgkin's lymphoma, v 2.2015) de un tratamiento mejorado (véase Sehn, *loc. cit.*).

20 Por lo tanto, el problema técnico que subyace a la presente invención es proporcionar un tratamiento mejorado de DLBGL en determinados pacientes.

La solución a dicho problema técnico se proporciona en el presente documento a continuación y se caracteriza en las reivindicaciones adjuntas.

25 Las referencias a procedimientos de tratamiento en los párrafos posteriores de la presente descripción se deben interpretar como referencia a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un procedimiento para el tratamiento del cuerpo humano (o de animal) por tratamiento (o para diagnóstico).

30 Se descubrió sorprendentemente que, de todos los pacientes con DLBGL, algunos pacientes responden a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) por un resultado clínico mejorado, en particular en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). También se descubrió sorprendentemente que se pueden identificar/determinar subgrupos de pacientes con DLBGL que responden a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) por un resultado clínico mejorado, en particular en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). También se descubrió sorprendentemente que existen pacientes con DLBGL que responden a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) por un resultado clínico mejorado, en particular en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). Es la esencia principal de la invención que dichos pacientes con DLBGL particulares y subgrupos de pacientes con DLBGL, respectivamente, se puedan definir; también denominado en el presente documento "paciente definido en el presente documento". Es otra esencia de la invención que dicho paciente se pueda definir por biomarcadores (también denominados en el presente documento "biomarcadores predictivos" y "paciente definido por biomarcadores predictivos", respectivamente).

50 En particular, en base a los análisis exploratorios de GOYA, se demostró en el contexto de la invención, y se ilustra por los ejemplos adjuntos, que obinutuzumab es superior a rituximab (cada uno en combinación con una quimioterapia CHOP) en (un) subconjunto(s) de pacientes con DLBGL BCG (por ejemplo, en un subgrupo de pacientes con DLBGL BCG similar a linfoma folicular (LF) molecular nuevo) y/o en pacientes con DLBGL con mutaciones en CD58 y/o con baja expresión de CD58. Esta fue la primera vez que se identificó un beneficio de obinutuzumab sobre R para determinados pacientes, en particular para un paciente definido en el presente documento.

60 Por ejemplo, en el contexto de la presente invención, se han identificado/determinado los siguientes pacientes con DLBGL definidos por biomarcadores que se benefician del tratamiento con G (por ejemplo, G-CHOP) sobre el tratamiento con R (por ejemplo, R-CHOP):

- pacientes con BCL2 translocada (véase, por ejemplo, la fig. 4);
- pacientes con sobreexpresión de proteína BCL2 (véase, por ejemplo, la fig. 5);
- pacientes con BCL2 translocada con sobreexpresión de proteína BCL2 (véase, por ejemplo, la fig. 6);

- (a) subconjunto(s) de pacientes con DLBGB BCG. Estos se pueden identificar, por ejemplo, como:

- clasificación de subgrupos (CDO) de pacientes con BCG por valores de corte de la puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) en subgrupos de pacientes con "BCG fuerte" (pacientes con LPS < valor de corte; por ejemplo, en comparación con el valor de corte de DLBGB BCG general de LPS ~ 1900) por ejemplo, fig. 7, 10 y 12);

- pacientes con BCG con alta expresión génica de BCL2;

- pacientes con BCG que con sobreexpresión de proteína BCL2;

- pacientes con BCG con translocación de BCL2;

- pacientes con BCG con translocación de BCL2 con sobreexpresión de proteína BCL2 (véase, por ejemplo, la fig. 8);

- pacientes con CD58 mutada y/o pacientes con baja expresión de CD58 (véase, por ejemplo, la fig. 9).

Más particular, en base a análisis exploratorios de GOYA, se demostró en el contexto de la invención, y se ilustra por los ejemplos adjuntos, que una evaluación de la LPS como variable continua identificó un subgrupo de pacientes con BCG que se beneficiaron de G (en particular G-CHOP) sobre R (en particular R-CHOP). Incluso más particular, se observó que la expresión ponderada de un perfil de matriz de expresión génica (EG) (medido por LPS) se vinculó con un beneficio en el resultado del tratamiento con G (por ejemplo, G-CHOP) sobre el tratamiento con R (por ejemplo, R-CHOP) entre pacientes con BCG en GOYA.

Sobre esta base, se podrían determinar nuevos valores de corte de LPS que definan un subgrupo de pacientes con DLBGB BCG fuerte que se beneficie del tratamiento con G sobre el tratamiento con R. Estos nuevos valores de corte están sustancialmente por debajo del valor de corte de LPS normalmente asignado a DLBGB BCG (~ <1900)). Por ejemplo, se determinó un nuevo valor de corte de LPS de ≤749 en análisis de simulación multivariantes (véase la figura 10). De acuerdo con este ejemplo, los pacientes con 'BCG fuerte', definidos como pacientes con una LPS de ≤749, representaron un 25 % (233/933) de los pacientes con DLBGB evaluables y un 43 % (233/540) de los pacientes con BCG evaluables en GOYA. Como otro ejemplo, se determinó un nuevo valor de corte de LPS de ≤725 en análisis de simulación multivariantes (véanse las figuras 10, 12). De acuerdo con este ejemplo, los pacientes con 'BCG fuerte' se definen de manera más rigurosa como pacientes con una LPS de ≤725. Estos pacientes representan un 25 % (229/933) de los pacientes con DLBGB evaluables y un 43 % (229/540) de los pacientes con BCG evaluables en GOYA. Se demostró que un valor de corte de LPS de alrededor de 725 refleja una extraordinaria solidez y alta generalización de los resultados para cohortes independientes ("paciente definido en el presente documento"), es decir, pacientes con DLBGB BCG fuerte. Esto se demostró por simulaciones de muestreo con reposición.

Los pacientes con BCG fuerte tratados con G (G-CHOP) lograron resultados clínicos significativamente mejores, por ejemplo en términos de supervivencia sin progresión (SSP), supervivencia sin sucesos (SSS) y supervivencia global (SG), que los tratados con R (R-CHOP) (véase la tabla 4). La seguridad de alto nivel fue similar con cualquier pauta de tratamiento.

En los análisis de enriquecimiento de conjuntos de genes en los datos de FoundationOne® Heme (FOH), los pacientes con BCG fuerte se caracterizaron además como significativamente enriquecidos para los rasgos característicos de mutación somática de LF, en comparación con otros pacientes con BCG, denominados pacientes con "BCG débil" (por ejemplo, tasas de descubrimientos falsos, TDF, 3,54e-9). En particular, las translocaciones de BCL2 y mutaciones/tasas de mutación en varios genes m7-FLIPI (*BCL2*, *BCL6*, *CD70*, *CDKN2A*, *CREBBP*, *EP300*, *IGH*, *MEF2B*, *MYC*, *MYD88*, *PCLO*, *TNFAIP3*, *TNFRSF14*) estaban altamente enriquecidas en pacientes con BCG fuerte y/o en pacientes con DLBGB con translocaciones de BCL2 y/o con alta expresión de BCL2, en comparación con otros pacientes con DLBGB (a una TDF <5 %; figura 11). No existieron pruebas de LNH de escasa malignidad transformado en el subconjunto de BCG fuerte en la evaluación anatomopatológica central.

En resumen, se han identificado nuevos subtipos clínica y molecularmente distintos de DLBGB, en particular de DLBGB BCG, entre otros, un subtipo denominado "BCG fuerte". Los subtipos identificados representan DLBGB *de novo*. Estos presentan rasgos característicos moleculares de LF, tales como mutaciones típicas de LF (véase Morin, Nature 476 (7360), 2011, 298-303), sin embargo difieren clínicamente de LF. El tratamiento con G (por ejemplo, G-CHOP) confiere un beneficio clínico sustancial sobre el tratamiento con R (por ejemplo, R-CHOP) en estos nuevos subconjuntos de pacientes con DLBGB (BCG) ("paciente definido en el presente documento"), en particular de DLBGB (BCG) 1L.

En consecuencia, la invención prevé

1. un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humanizado que comprende

(a) una región variable de la cadena pesada como se representa en SEQ ID NO:1 o como se comprende en SEQ ID NO:5 (residuos aminoácidos 1 a 119) y una región variable de la cadena ligera como se representa en SEQ ID NO:2 o como se comprende en SEQ ID NO:6 (residuos aminoácidos 1 a 115); o

(b) una región variable de la cadena pesada que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:7 y una región variable de la cadena ligera que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:4 o SEQ ID NO:8,

en el que dicho anticuerpo puede provocar un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) en comparación con rituximab, puede provocar un incremento en la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) en comparación con rituximab y/o tiene un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab, para su uso en el tratamiento del linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBG) en un paciente que responde a un tratamiento con obinutuzumab alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab, en el que dicho paciente es

(i) un paciente con una o más mutaciones en uno o más de los genes seleccionados del grupo que consiste en *CREBBP*, *EP300*, *MEF2B*, *MYC*, *EZH2* y *TNFRSF14*;

(ii) un paciente con (una) mutación/mutaciones genética(s) en *CD58* y/o con una baja expresión de *CD58* que corresponde a $\log_2(\text{lecturas normalizadas por kilobase por millón (nRPKM)}) \leq 5,2$;

(iii) un paciente con un subtipo de célula de origen (CDO) de DLBG que es DLBG similar a linfocitos B del centro germinativo (BCG) como se define por una puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) <1141 (DLBG BCG fuerte); y/o

(iv) un paciente con DLBG con *BCL2* translocada y/o un paciente con DLBG con alta expresión de *BCL2* en el que un ≥ 50 % de las células tumorales expresan *BCL2*.

2. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 1, en el que dicho resultado clínico es supervivencia sin progresión (SSP), supervivencia global (SG) y/o supervivencia sin sucesos (SSS).

3. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 1 o 2, en el que dicho paciente es:

(i) un paciente como se define en el punto 1(i); y

(ii) un paciente como se define en el punto 1(ii).

4. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 3, en particular de acuerdo con el punto 3(i), en el que dicho paciente es

(i) un paciente como se define en el punto 1(iii); y

(ii) un paciente como se define en el punto 1(iv).

5. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 4, en particular de acuerdo con el punto 1(iii) o 4(i), en el que dicho paciente se identifica determinando la expresión de un conjunto de genes que comprende uno, más o todos los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1*, and *CCDC50*; and *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1* y *S1PR2*.

6. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 4(i) o 5, en el que dicho paciente con DLBG BCG fuerte es un paciente que tiene un tumor con una expresión ponderada de un conjunto de genes que comprende uno, más o todos los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1* y *CCDC50*; y *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1* y *S1PR2* lo que da como resultado una puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) < 1141.

7. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 5 o 6, en el que dicho conjunto de genes comprende además uno, más o todos los genes *R3HDM1*, *WDR55*, *ISY1*, *UBXN4* y *TRIM56*.

8. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 5 a 7, en el que la expresión de dicho uno o más genes como se define en los puntos 5 o 6 se normaliza a la expresión de uno, más o todos los genes como se define en el punto 7.

9. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 8, en el que dicha LPS es la suma ponderada de la expresión de genes o de la expresión de dichos genes calculada de acuerdo con la siguiente

fórmula (fórmula I):

$$LPS(X) = \sum_j a_j X_j,$$

5 en la que X_j es la expresión génica para el gen j y a_j es el coeficiente para el gen j .

10. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 9, en el que dicha LPS es ≤ 1100 .

11. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 10, en el que dicha LPS es ≤ 749 .

12. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 11, en el que dicha LPS es ≤ 725 .

13. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 12, en el que dicho anticuerpo comprende una región Fc glucomanipulada.

14. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 13, en el que dicho anticuerpo tiene un incremento en la fracción de oligosacáridos no fucosilados unidos a dicha región Fc glucomanipulada.

15. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 13 o 14, en el que dicho anticuerpo tiene un incremento en la fracción de oligosacáridos no fucosilados bisectados unidos a dicha región Fc glucomanipulada.

16. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 15, en particular de acuerdo con el punto 16, en el que dicho anticuerpo tiene niveles significativamente mayores de unión a los receptores FcγRIII humanos en relación con el anticuerpo no glucomanipulado y/o en relación con rituximab.

17. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 16, en particular de acuerdo con el punto 13, en el que dicho anticuerpo tiene niveles significativamente mayores de actividad ADCC en relación con el anticuerpo no glucomanipulado y/o en relación con rituximab.

18. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 17, en el que dicho anticuerpo es obinutuzumab.

19. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 18, en el que se van a administrar uno o más de otros agentes citotóxicos o quimioterápicos adicionales o radiación ionizante potenciando los efectos de dicho agente o agentes.

20. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 19, en el que dicho anticuerpo se va a administrar en combinación con una quimioterapia CHOP.

21. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 20, en el que dicho anticuerpo está comprendido en una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

22. Procedimiento para identificar a un paciente con DLBCL que responde a un tratamiento con obinutuzumab alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab,

comprendiendo dicho procedimiento determinar, usando una muestra de un paciente, si un paciente es un paciente como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 12.

23. Procedimiento para diagnosticar en un paciente una forma de DLBCL que se puede tratar con obinutuzumab de modo que se alcance un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab,

comprendiendo dicho procedimiento determinar, usando una muestra de un paciente, si un paciente es un paciente como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 12, y diagnosticar dicha forma de DLBCL si el paciente es un paciente como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 12.

24. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 21, en el que (i) se ha determinado si dicho paciente es un paciente como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 12, en el que (ii) se ha identificado a dicho paciente de acuerdo con el procedimiento del punto 22, o en el que (iii) una forma de DLBCL se ha diagnosticado en dicho paciente de acuerdo con el procedimiento del punto 23.

25. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 21 y 24, en el que dicho tratamiento comprende la etapa de (i) determinar si el paciente que se va a tratar es un paciente como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 12, (ii) identificar a un paciente con DLBCL de acuerdo con el procedimiento del punto 22, o (iii) diagnosticar en el paciente una forma de DLBCL de acuerdo con el procedimiento del punto 23.

26. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 24 o 25, en el que dicho tratamiento comprende la etapa

de determinar, usando una muestra del paciente, si el paciente que se va a tratar es un paciente como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 12.

27. El procedimiento del punto 22 o 23 o el anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 26, en el que dicha muestra es una muestra tumoral.

En el presente documento se divulgan medios y procedimientos para identificar/determinar/diagnosticar (un subconjunto(s) de pacientes con (BCG) LDLBG que responden ventajosamente a obinutuzumab ("paciente definido en el presente documento"), en particular más ventajosamente a obinutuzumab que a R. La identificación/determinación/diagnóstico se puede realizar por varias formas, por ejemplo, determinando si existe una translocación de BCL2 y/o una sobreexpresión de proteína BCL2, si existe(n) (una) mutación/mutaciones genética(s) en CD58 y/o si existe expresión de CD58 reducida, o por análisis de expresión génica/determinación de expresión génica ponderada (por ejemplo, empleando el ensayo de CDO de NanoString) y usando valores de corte novedosos para LPS (como se describe en el presente documento en otra parte).

Más particular, en el presente documento se divulga un procedimiento para identificar a un paciente con LDLBG (paciente con/que padece LDLBG) que responde a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). Comprendiendo dicho procedimiento (la etapa de) determinar (por ejemplo, usando una muestra (tumoral) de un paciente) si un paciente es un paciente definido en el presente documento.

En el presente documento se divulga además un procedimiento para diagnosticar en un paciente una forma de LDLBG que se puede tratar con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) de modo que se alcance un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). Comprendiendo dicho procedimiento (la etapa de) determinar (por ejemplo, usando una muestra (tumoral) de un paciente) si un paciente es un paciente definido en el presente documento. Comprendiendo (además) dicho procedimiento (la etapa de) diagnosticar dicha forma de LDLBG si el paciente es un paciente definido en el presente documento.

La presente invención también se refiere a obinutuzumab, o un equivalente funcional del mismo, para su uso en el tratamiento/intervención médica del paciente como se define en las reivindicaciones. En principio, el término "obinutuzumab" como se usa en el presente documento también abarca sus equivalentes funcionales (véase a continuación para más explicaciones/definiciones). En el contexto de la invención, un equivalente funcional de obinutuzumab es un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humanizado que comprende

(a) una región variable de la cadena pesada como se representa en SEQ ID NO:1 o como se comprende en SEQ ID NO:5 (residuos aminoácidos 1 a 119) y una región variable de la cadena ligera como se representa en SEQ ID NO:2 o como se comprende en SEQ ID NO:6 (residuos aminoácidos 1 a 115); o

(b) una región variable de la cadena pesada que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:7 y una región variable de la cadena ligera que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:4 o SEQ ID NO:8,

en el que dicho anticuerpo puede provocar un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) en comparación con rituximab, puede provocar un incremento en la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) en comparación con rituximab y/o tiene un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab.

En un aspecto, la presente invención se refiere a obinutuzumab para su uso en el tratamiento de LDLBG en un paciente como se define en las reivindicaciones.

En el contexto de este uso, se prevé, por ejemplo, que (i) se ha determinado (por el uso de una muestra (tumoral) de un paciente) si un paciente que se va a tratar es un paciente definido en el presente documento, (ii) un el paciente que se va a tratar se ha identificado de acuerdo con el procedimiento para identificar de la invención, o (iii) una forma de LDLBG se ha diagnosticado en un paciente que se va a tratar de acuerdo con el procedimiento de diagnóstico de la invención.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a obinutuzumab para su uso en el tratamiento de LDLBG en un paciente como se define en las reivindicaciones, en el que se prevé, por ejemplo, que dicho tratamiento comprenda la etapa de (i) determinar (usando una muestra (tumoral) de un paciente) si un paciente (LDLBG) que se va a tratar es un paciente como se define en el presente documento, (ii) identificar a un paciente con LDLBG de acuerdo con el procedimiento para identificar de la invención, o (iii) diagnosticar en el paciente una forma de LDLBG de acuerdo con el procedimiento *in vitro* para diagnosticar de la invención.

En el contexto de la (etapa de) determinación/identificación/diagnóstico, se puede emplear una muestra de un paciente (LDLBG), por ejemplo, una muestra tumoral de un paciente (LDLBG). La determinación puede ser en una muestra de un paciente (LDLBG), por ejemplo, en una muestra tumoral de un paciente (LDLBG). Un ejemplo de una muestra particular que se va a emplear de acuerdo con la invención es una muestra de tejido tumoral/biopsia tumoral, más particular un tejido tumoral/biopsia tumoral fijado con formol e incluido en parafina. Dicha muestra se puede preparar, por ejemplo, como se describe en Scott (2014 y 2015 *loc. cit.*). Otras muestras adecuadas se describen en el presente documento en otra parte.

También se describe en el presente documento un procedimiento para tratar LDLBG en un paciente que lo necesita, en el que dicho paciente es un paciente definido en el presente documento. El procedimiento puede comprender las etapas de obtener una muestra de un paciente para el que se contempla tratamiento de LDLBG y/o someter a prueba la/una muestra de un paciente para determinar si dicho paciente es un paciente definido en el presente documento. Se prevé que el procedimiento para tratar como se divulga en el presente documento comprenda la etapa de administrar una cantidad farmacéuticamente eficaz de obinutuzumab al paciente que se va a tratar. En el contexto de estas etapas, en particular la etapa de prueba, se puede emplear una muestra (tumoral) de un paciente (LDLBG). La prueba puede ser en una muestra (tumoral) de un paciente (LDLBG). Lo que se dice en el presente documento anteriormente y en otra parte con respecto a una "muestra" que se va a emplear también se aplica aquí, *mutatis mutandis*.

En el contexto de estas etapas, en particular en el contexto de la etapa de prueba (o en lugar de esa etapa) también se puede emplear un procedimiento para identificar o diagnosticar de acuerdo con la invención.

Además, en el presente documento se divulga el uso de obinutuzumab para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de LDLBG en un paciente definido en el presente documento. Dicho tratamiento puede comprender la etapa de determinar/identificar/diagnosticar si un paciente (LDLBG) que se va a tratar es un paciente como se define en el presente documento. En el contexto de la etapa de determinación/identificación/diagnóstico, se puede emplear una muestra de un paciente (LDLBG), por ejemplo, una muestra tumoral de un paciente (LDLBG). La determinación puede ser en una muestra de un paciente (LDLBG), por ejemplo, en una muestra tumoral de un paciente (LDLBG). Lo que se dice en el presente documento en otra parte con respecto a una "muestra" que se va a emplear se aplica aquí, *mutatis mutandis*. Asimismo, lo que se ha dicho anteriormente con respecto al uso y tratamiento se aplica aquí, *mutatis mutandis*.

El paciente que se va a tratar de acuerdo con la invención ("paciente definido en el presente documento") es un paciente, en particular un paciente con/que padece LDLBG, que responde a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP), en el que dicho paciente es

(i) un paciente con una o más mutaciones en uno o más de los genes seleccionados del grupo que consiste en *CREBBP*, *EP300*, *MEF2B*, *MYC*, *EZH2* y *TNFRSF14*;

(ii) un paciente con (una) mutación/mutaciones genética(s) en *CD58* y/o con una baja expresión de *CD58* que corresponde a $\log_2(\text{lecturas normalizadas por kilobase por millón (nRPKM)}) \leq 5,2$;

(iii) un paciente con un subtipo de célula de origen (CDO) de LDLBG que es LDLBG similar a linfocitos B del centro germinativo (BCG) como se define por una puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) < 1141 (LDLBG BCG fuerte); y/o

(iv) un paciente con LDLBG con *BCL-2* translocada y/o un paciente con LDLBG con alta expresión de *BCL2* en el que un ≥ 50 % de las células tumorales expresan *BCL2*.

En un aspecto (A), el paciente definido en el presente documento es un paciente definido por biomarcador predictivo.

Un biomarcador es "predictivo" si se puede usar para identificar a un paciente definido en el presente documento (opcionalmente en combinación con uno o más biomarcadores (predictivos)), es decir, un paciente que responde al tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia), más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) de forma más ventajosa al tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). Más particular, un biomarcador es predictivo si el efecto del tratamiento (es decir, el tratamiento con G en comparación con el tratamiento con R) difiere entre los (subgrupos de) pacientes definidos por biomarcadores. Es preferente en este contexto, que el/los biomarcador(es) predictivo(s) sea(n) el/los biomarcador(es) como se define en el presente documento en otra parte. Los ejemplos particulares de biomarcadores predictivos que se van a evaluar en el contexto de la invención son *CD58* (por ejemplo, (a) mutación/mutaciones genética(s) en el mismo y/o baja

expresión del mismo), *BCL2* (por ejemplo, translocaciones y/o alta expresión del mismo) y uno o más (preferentemente todos) de los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1* y *CCDC50*; y *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1* y *S1PR2* (por ejemplo, la expresión ponderada de los mismos que da como resultado una LPS sustancialmente por debajo de ~ 1900). En este contexto, también se hace referencia a lo que se divulga a continuación, por ejemplo, B a G.

En un aspecto (B), el paciente definido en el presente documento (que se va a tratar con obinutuzumab) es un paciente con/que padece LDLBG de linfocitos B del centro germinativo (BCG) similar al linfoma folicular (LF) molecular.

"Molecular" en este contexto quiere decir que, a nivel molecular, los pacientes se parecen a pacientes con LF (véase Morin *loc. cit.*). Sin embargo, se prevé que, a nivel clínico/clínicamente, los pacientes no se parezcan a pacientes con LF.

El LDLBG BCG similar a LF molecular de acuerdo con este aspecto se caracteriza preferentemente como LDLBG BCG fuerte de acuerdo con la invención y/o como LDLBG en pacientes con translocaciones de *BCL2* y/o alta expresión de *BCL2* (véanse D y E, *infra*).

Un paciente que padece LDLBG BCG similar a LF molecular también se puede caracterizar como un paciente con una o (preferentemente) más mutaciones en uno o (preferentemente) más de los genes seleccionados del grupo que consiste en *BCL2*, *BCL6*, *CD70*, *CDKN2A*, *CREBBP*, *EP300*, *IGH*, *MEF2B*, *MYC*, *MYD88*, *PCLO*, *TNFAIP3* y *TNFRSF14*. Aunque es menos preferente, un paciente que padece LDLBG BCG similar a LF molecular también se puede caracterizar como un paciente con una o (preferentemente) más mutaciones en uno o (preferentemente) más de los genes seleccionados del grupo que consiste en *BCL2*, *CREBBP*, *EP300*, *EZH2*, *MEF2B*, *PCLO* y *TNFRSF14*, con una o (preferentemente) más mutaciones en uno o (preferentemente) más de los genes seleccionados del grupo que consiste en *CREBBP*, *EP300*, *EZH2*, *MEF2B* y *TNFRSF14*, o con una o (preferentemente) más mutaciones en uno o (preferentemente) más de los genes seleccionados del grupo que consiste en *EZH2*, *MEF2B* y *TNFRSF14*.

Un ejemplo particular, sin embargo, no limitante, de una mutación aplicable a este respecto es una mutación de *BCL2*, en particular una translocación de *BCL2* (véase a continuación para los detalles).

La(s) mutación/mutaciones se puede(n) identificar, por ejemplo, basándose en los ejemplos adjuntos. El ensayo de secuenciación de segunda generación de Foundation Medicine, FoundationOne® Heme, se puede usar, por ejemplo, a este respecto (de acuerdo con el manual del distribuidor).

En un aspecto (C), el paciente definido en el presente documento (que se va a tratar con obinutuzumab) es un paciente con una o más mutaciones genéticas en CD58 y/o con baja expresión de CD58.

CD58 (véase también Challa-Malladi *loc. cit.*) es conocido por estar implicado en el reconocimiento inmunitario de células tumorales y se expresa en células tumorales. CD58 se une a CD2 en CTL efectoras y linfocitos NK (proporcionando de este modo señales de activación de células efectoras inmunitarias). La presencia de anomalías genéticas en CD58 se asocia con una expresión de superficie de CD58 perdida o anómala (por ejemplo, detectable por inmunohistoquímica, IHQ). Un 67 % de los casos de LDLBG muestran expresión de proteína CD58 anómala; con igual proporción en los subgrupos de CDO BCG y LBA.

Las secuencias de nucleótidos que codifican CD58 y las secuencias de aminoácidos de CD58, en particular CD58 de *Homo sapiens* (ser humano), son bien conocidas en la técnica. Se pueden descargar, por ejemplo, siguiendo **Uniform Resource Locator (URL)** https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/?term=Homo+sapiens+CD58&utm_expid=.fAeH_yO5JTBGxnObh2WlrCA.0&utm_referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fsearch%2F%3Fterm%3DHomo%2Bsapiens%2BCD58. Las secuencias de nucleótidos que codifican CD58, en particular CD58 de *Homo sapiens* (ser humano), están disponibles, por ejemplo, por medio de los números de acceso de NCBI: XM_017002869.2 (variante X1); NR_026665.1 (variante 3); NM_001779.2 (variante 1); NM_001144822.1 (variante 2). Las secuencias de aminoácidos de CD58, en particular de CD58 de *Homo sapiens* (ser humano), están disponibles, por ejemplo, por medio de los números de acceso de NCBI: XP_016858358.1 (isoforma X1); NP_001138294.1 (isoforma 2); NP_001770.1 (isoforma 1). Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica CD58 de *Homo sapiens* (ser humano) se representa en SEQ ID NO:11. Un ejemplo de una secuencia de aminoácidos de CD58 de *Homo sapiens* (ser humano) se representa en SEQ ID NO:12.

En principio, se prevé que "expresión" en el contexto de la invención quiera decir tanto expresión génica, es decir, aparición de ARNm (primario) (nivel de transcripción) como expresión de proteína, es decir, aparición de proteína (nivel de traducción).

La aparición de ARNm (primario), por ejemplo, se puede medir/detectar por técnicas de hibridación *in situ* (ISH), por ejemplo por ISH de fluorescencia (FISH). Los respectivos medios y procedimientos son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Zhang (Chin. J. Cancer. Res. 23(2), 2011, 160–4; véase también

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3587538/>.

La expresión génica/aparición de ARNm (primario), en particular expresión génica de CD58/aparición de ARNm (primario) de CD58, también se puede evaluar usando secuenciación de ARN TruSeq® (de acuerdo con el manual del distribuidor (Illumina®, Inc.)).

La aparición de proteína, por ejemplo, se puede medir/detectar por IHQ. Los respectivos medios y procedimientos son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Punnoose (*loc cit.*; véase también <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/3971>).

La expresión de proteína/aparición de proteína, en particular expresión de proteína CD58, también se puede medir/detectar como se describe en Challa-Malladi *loc. cit.*

En general, los medios y procedimientos para evaluar la expresión de CD58 y las mutaciones de CD58 son conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Challa-Malladi *loc. cit.*). Además, el experto en la técnica puede evaluar fácilmente si una expresión de CD58 dada es "baja" o si existe(n) (una) mutación/mutaciones de CD58.

Además, el experto en la técnica puede elegir fácilmente un control adecuado en comparación con el que una expresión de CD58 dada se considera "menor" o en comparación con el que se considera que existe(n) (una) mutación/mutaciones de CD58. En este contexto, el experto en la técnica también se puede basar, por ejemplo, en Challa-Malladi (*loc. cit.*).

"Baja expresión de CD58" quiere decir que CD58 se expresa a un nivel sustancialmente menor, en particular en comparación con un control adecuado. En general, una "baja expresión de CD58" quiere decir que la expresión de CD58 es tan baja (por ejemplo, $\pm 10\%$ o menos, $\pm 7,5\%$ o menos, $\pm 5\%$ o menos, $\pm 3\%$ o menos, $\pm 2\%$ o menos, $\pm 1\%$ o menos, o incluso $\pm 0\%$) como la expresión de CD58 en un paciente que responde al tratamiento (es decir, un paciente que responde a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP); "paciente definido en el presente documento") y/o menor que la expresión de CD58 en un paciente que no responde al tratamiento (es decir, un paciente que responde a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) no alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con el tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP); distinto a "paciente definido en el presente documento"). El experto puede evaluar fácilmente cuándo la expresión de CD58 es "baja" a este respecto y aplicar un control adecuado. Por ejemplo, un control a este respecto puede ser una población con DLBCL común, más particular pacientes con DLBCL que no están clasificados como pertenecientes al subgrupo de pacientes clasificados de acuerdo con la invención (distinto de "paciente definido en el presente documento").

"Baja expresión de CD58" puede ser una expresión de CD58 menor que la mediana de la expresión de CD58 entre un grupo de control, por ejemplo, entre dichos grupos de control mencionados anteriormente. Por ejemplo, una "baja expresión de CD58" y un "nivel menor" de expresión de CD58, respectivamente, de acuerdo con la invención puede ser una expresión de CD58 que es menor que la mediana de expresión de CD58 entre los pacientes de GOYA observados.

Como unidad de expresión (génica) de CD58, se puede usar la unidad $\log_2(\text{nRPKM})$, que son las lecturas normalizadas por kilobase por millón. La mediana de expresión de CD58 usando esta unidad entre los pacientes de GOYA es de alrededor de 5,3. En consecuencia, una "baja expresión de CD58" y un "nivel menor" de expresión de CD58, respectivamente, de acuerdo con la invención puede ser una expresión de CD58 que es menor que la expresión de CD58 en un (grupo de) paciente(s) de control (véase anteriormente) correspondiente a la unidad $\log_2(\text{nRPKM})$ 5,3 (mediana de expresión de CD58 en el (grupo de) paciente(s) de control). En otras palabras, la expresión de CD58 en un paciente que se va a tratar de acuerdo con la invención puede ser sustancialmente menor que la expresión de CD58 en un (grupo de) paciente(s) de control correspondiente a la unidad $\log_2(\text{nRPKM})$ de 5,3. Es decir, la expresión de CD58 en un paciente que se va a tratar de acuerdo con la invención puede ser una expresión de CD58 que corresponde a una unidad $\log_2(\text{nRPKM}) \leq 5,2, \leq 5,1, \leq 5,0, \leq 4,5, \leq 4,0, \leq 3,5, \leq 3,0, \leq 2,5$ o $\leq 2,0$.

Como se menciona anteriormente, CD58 se expresa en células tumorales y en la superficie de linfocitos B. En consecuencia, en un aspecto particular, "baja expresión de CD58" y "nivel menor" de expresión de CD58, respectivamente, quiere decir que CD58 se expresa en células tumorales y/o linfocitos B a un nivel que es sustancialmente menor que la expresión de CD58, en células tumorales de DLBCL comunes y/o linfocitos B de DLBCL comunes. "DLBCL común" en este contexto, por ejemplo, quiere decir que las células tumorales y linfocitos B, respectivamente, se derivan de un paciente que no responde al tratamiento, preferentemente de células tumorales de DLBCL y linfocitos B de DLBCL, respectivamente, derivados de un paciente con DLBCL que no está clasificado como un paciente definido en el presente documento.

Por ejemplo, una "baja expresión de CD58" y un "nivel menor" (sustancialmente) de expresión de CD58, respectivamente, quiere decir que CD58 se expresa a un nivel que es al menos un 10 % menor, al menos un 20 % menor, al menos un 30 % menor, al menos un 40 % menor, al menos un 50 % menor, al menos un 75 % menor o al menos un 100 % menor, en particular en comparación con la expresión de CD58 en un control adecuado (por ejemplo, "paciente/población con LDLBG común; distinto a "paciente definido en el presente documento"). Esto se aplica tanto a expresión génica como a expresión de proteínas.

Las mutaciones, en particular mutaciones de CD58, se pueden identificar, por ejemplo, usando el panel FoundationOne® Heme (FOH) (véase, por ejemplo, He, Blood 127(24), 2017, 3004-14; véanse también los ejemplos adjuntos).

Los ejemplos de mutaciones genéticas en CD58 que pueden estar presentes (y detectarse) en un paciente definido en el presente documento son mutaciones variantes cortas y/o variantes del número de copias.

El experto en la técnica puede elegir fácilmente una muestra apropiada que se va a usar cuando se evalúa/detecta la expresión de CD58 o (una) mutación/mutaciones de CD58 (como muestra de prueba o bien como muestra de control).

Un ejemplo particular de una muestra que se va a emplear (como muestra de prueba o bien como muestra de control) para evaluar/detectar si existe una baja expresión de CD58 es una muestra (por ejemplo, biopsia) de un tumor (que expresa CD58) y/o una muestra (por ejemplo, una biopsia) que contiene linfocitos B (que expresan CD58).

Un ejemplo particular de una muestra que se va a emplear (como muestra de prueba o bien como muestra de control) para evaluar/detectar si existe(n)(a) mutación/mutaciones de CD58 es una muestra de ADN.

En un aspecto (D), el paciente definido en el presente documento (que se va a tratar con obinutuzumab) es un paciente con/que padece LDLBG BCG fuerte.

De acuerdo con la invención, un paciente con/que padece LDLBG BCG fuerte se puede identificar determinando la expresión (ponderada) de (un conjunto de genes que comprende) uno o más (preferentemente todos) de los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1* y *CCDC50* (genes sobreexpresados en LDLBG LBA); y *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1* y *S1PR2* (genes sobreexpresados en LDLBG BCG).

Más particular, un paciente con/que padece LDLBG BCG fuerte se puede definir como un paciente que tiene un tumor con una determinada expresión (ponderada) de (un conjunto de genes que comprende) uno o más, preferentemente todos, de los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1* y *CCDC50*; y *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1* y *S1PR2*; y, opcionalmente, uno o más, preferentemente todos, de los genes *R3HDM1*, *WDR55*, *ISY1*, *UBXN4* y *TRIM56* (genes constitutivos).

Se prevé en particular en el contexto de este aspecto/modo de realización de la invención que se evalúe la expresión génica ponderada.

En particular, cuando la puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) resultante de la expresión ponderada de un conjunto de genes divulgado en el presente documento está por debajo de un determinado valor de corte, es decir, sustancialmente por debajo del valor de corte de LPS normalmente asignado a LDLBG BCG (~ <1900), el LDLBG BCG se considera como "LDLBG BCG fuerte". Asimismo, cuando la expresión ponderada de un conjunto de genes divulgado en el presente documento corresponde a la expresión ponderada de un conjunto de genes divulgados en el presente documento del que resulta una LPS por debajo de un determinado valor de corte, es decir, una LPS sustancialmente por debajo del valor de corte de LPS normalmente asignado a LDLBG BCG (~ <1900), el LDLBG BCG se considera "LDLBG BCG fuerte". De acuerdo con la invención, los ejemplos de valores de corte particulares, es decir, LPS resultante, que se pueden aplicar, es decir, que definen "LDLBG BCG fuerte", son los valores de corte <1141, ≤ 1100, ≤ 756, ≤ 750, ≤ 749, ≤ 745, ≤ 725 o ≤ 699.

Los valores de corte preferentes son (aproximadamente) ≤ 750, (aproximadamente) ≤ 749 y (aproximadamente) ≤ 725. Los valores de corte en particular preferentes son (aproximadamente) ≤ 750 y (aproximadamente) ≤ 725.

El conjunto de genes que se va a emplear de acuerdo con la invención, es decir, de acuerdo con la determinación/identificación/diagnóstico de LDLBG BCG fuerte, puede comprender además uno o más genes constitutivos, por ejemplo, uno o más (preferentemente todos) de los genes constitutivos. *R3HDM1*, *WDR55*, *ISY1*, *UBXN4* y *TRIM56*.

La expresión del uno o más de los otros genes que se van a emplear se puede normalizar a la expresión de uno o más genes constitutivos, por ejemplo, genes constitutivos como se define en el presente documento. El experto en

la técnica puede normalizar fácilmente la expresión de uno o más de estos otros genes (y de uno o más de otros genes que se pueden comprender en el conjunto de genes que se van a emplear de acuerdo con la invención) en base a uno o más genes constitutivos, por ejemplo, en base al uno o más genes constitutivos mencionados anteriormente. Por ejemplo, a este respecto se pueden emplear al menos 1, 2, 3, 4 o 5 (de estos) genes constitutivos. Para la respectiva guía, el experto en la técnica se puede basar, por ejemplo, en Scott (2014 y 2015 *loc. cit.*).

En principio, también se puede emplear un conjunto de genes que comprende solo un subconjunto de los conjuntos de genes mencionados anteriormente de acuerdo con la invención. Por ejemplo, dicho subconjunto puede comprender al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19 de todo el conjunto de genes mencionado anteriormente. Sin embargo, es más preferente cuantos más de estos genes se evalúan.

Los ejemplos de dichos subconjuntos de genes que se pueden emplear de acuerdo con la invención son subconjuntos de genes que comprenden al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 de los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1* y *CCDC50*, al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de los genes *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1* y *S1PR2*, o al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 de los genes de estos dos subconjuntos de genes. En principio, son preferentes los mayores números de genes.

También se prevé que no sólo se puedan evaluar los conjuntos particulares de genes o subconjuntos de genes como se menciona en el presente documento; sino también (sub)conjuntos de genes que comprenden uno o más de otros genes (por ejemplo, 2 o más, 3 o más, 4 o más, 5 o más, 6 o más, 7 o más, 8 o más, 9 o más, 10 o más, 20 o más, 30 o más, 40 o más, 50 o más, 60 o más, 70 o más, 80 o más, 90 o más, 100 o más, 150 o más, 170 o más, o 180 o más más de otros genes). Este/estos otro(s) gen(es) puede(n) ser, por ejemplo, uno o más de los (aproximadamente 180) genes conocidos por separar/distinguir LDLBG BCG y LBA (y no clasificado) en base a su expresión (ponderada) (véase, en particular, Lenz (N. Engl. J. Med. 359 (2), 2008, 2313-23) y también Geiss (Nature Biotechnology 26 (3), 2008, 317-25)).

Por ejemplo, un conjunto de genes que se va a evaluar puede comprender (al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19 de) los genes de cualquiera de los conjuntos particulares de genes o subconjuntos de genes mencionados anteriormente y uno o más de otros genes (por ejemplo, 2 o más, 3 o más, 4 o más, 5 o más, 6 o más, 7 o más, 8 o más, 9 o más, 10 o más, 20 o más, 30 o más, 40 o más, 50 o más, 60 o más, 70 o más, 80 o más, 90 o más, 100 o más, 150 o más, 170 o más, o 180 o más de otros genes), por ejemplo, de los (aproximadamente 180) genes conocidos por separar/distinguir LDLBG BCG y LBA (y no clasificado) en base a su expresión (ponderada) (véase Lenz y Geiss, *loc.cit.*).

Por ejemplo, se puede(n) añadir uno (o más) de otro(s) gen(es) a uno de los conjuntos o subconjuntos de genes descritos anteriormente, por ejemplo, a uno de los paneles de 20, 15, 8 o 7 genes mencionados anteriormente, o uno (o más) de los genes de uno de los conjuntos o subconjuntos de genes descritos anteriormente, por ejemplo, de los paneles de 20, 15, 8 o 7 genes mencionados anteriormente, se pueden reemplazar por uno (o más) de otro(s) gen(es).

Un ejemplo preferente de otro gen que se va a emplear de acuerdo con D es el gen *BLC2*.

Un ejemplo de los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar la expresión, en particular expresión ponderada, de los genes mencionados anteriormente se proporciona por NanoString (NanoString Technologies Inc., Seattle, WA, EE. UU.; véanse también Lenz (*loc. cit.*) y Geiss (*loc. cit.*)). Un ejemplo particular no limitante por el que se puede determinar la expresión (ponderada) de los genes mencionados anteriormente es el ensayo LST de uso exclusivo en investigación de NanoString. Otro ejemplo es la herramienta de ARN TruSeq® (Illumina®, Inc.). Otros ejemplos se describen en Wright (PNAS 100 (17), 2003, 9991-6). También se describe en Wright (*loc. cit.*) la aplicabilidad general de cualquier panel adecuado para análisis de expresión génica (ponderados).

De acuerdo con los ejemplos mencionados de medios y procedimientos que se pueden usar para determinar la expresión (ponderada), un paciente con/que padece LDLBG BCG fuerte también se puede definir como un paciente que tiene un tumor con una expresión génica (ponderada) que da como resultado una LPS por debajo de la LPS normalmente asignada a LDLBG BCG (~ <1900; véase anteriormente para los ejemplos de los respectivos valores de corte), en el que la LPS se deriva de un LST de NanoString, por ejemplo, del LST de uso exclusivo en investigación de NanoString (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, EE. UU.), como la expresión génica (ponderada) de los genes en el panel Nanostring (o un tumor con una expresión génica (ponderada) que corresponde a dicha expresión génica (ponderada)). Por ejemplo, los genes particulares mencionados anteriormente pueden estar en el panel de Nanostring.

Un paciente con/que padece LDLBG BCG fuerte también se puede definir como un paciente que tiene un tumor con una expresión génica (potenciada) con/que da como resultado una LPS por debajo de la LPS normalmente asignada a LDLBG BCG (~ <1900; véase anteriormente para los ejemplos de los respectivos valores de corte), en el que la LPS resulta de una clasificación CDO por un perfil de expresión génica (ponderada) (por ejemplo, usando

un LST de NanoString como se describe en el presente documento) (o un tumor con una expresión génica (ponderada) que corresponde a dicha expresión génica (ponderada)).

En principio, la clasificación de CDO (por ejemplo, en DCBCL BCG fuerte, no clasificado y débil) se puede basar en perfiles de expresión génica, en particular perfiles de expresión génica ponderados (por ejemplo, usando un LST de NanoString (como, por ejemplo, LST de uso exclusivo en investigación de NanoString) (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, EE. UU.).

En principio, el significado de "LPS" es conocido en la técnica y, en consecuencia, se entiende por el experto en la técnica. En particular, la LPS de acuerdo con la invención es una variable continua (promedio ponderado para la expresión génica; por ejemplo, de los genes mencionados en el presente documento, que pueden estar en un LST de Nanostring).

En la suma de los pacientes evaluados en GOYA, la LPS tiene un intervalo de -1138 a 4504. Normalmente, como se menciona anteriormente, la LPS se usa para clasificar a los pacientes en los subgrupos de CDO DLBCL BCG, DLBCL LBA y DLBCL no clasificado (véase anteriormente y Scott 2014 y 2015 *loc. cit.*). El algoritmo de CDO predeterminado usa un enfoque bayesiano con clasificación de BCG/LBA en base a un valor de corte de ≥ 90 % en la verosimilitud de ser BCG o LBA (no clasificado funciona como también).

Más particular, se prevé que la LPS de acuerdo con la invención sea la suma ponderada de la expresión de los genes que se van a emplear en el perfil de expresión génica (por ejemplo, los genes mencionados anteriormente comprendidos en los (sub)conjuntos de genes mencionados). La suma ponderada de la expresión génica se puede calcular de acuerdo con la siguiente fórmula (fórmula I):

$$LPS(X) = \sum_j a_j X_j,$$

en la que X representa cada muestra, X_j es la expresión génica para el gen j y a_j es el coeficiente para el gen j . (véase también Wright *loc. cit.*; en particular, las secciones "Gene Expression Data" y "Formulation of the DLBCL Subgroup Predictor")

En general, el experto en la técnica puede determinar la expresión de genes, en particular la expresión ponderada de genes, de acuerdo con las enseñanzas de la invención. Los respectivos medios y procedimientos son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Wright (*loc. cit.*), en particular, en las secciones "Gene Expression Data" y "Formulation of the DLBCL Subgroup Predictor". Wright (*loc. cit.*), por ejemplo, también explica cómo se puede usar el algoritmo de expresión génica ponderada y cómo se puede transferir a través de plataformas de expresión génica, como LST de NanoString y otras. También se proporciona una guía comparable en Lenz (*loc. cit.*).

En el contexto de la clasificación de DLBCL BCG fuerte de acuerdo con la invención y, en particular como se describe anteriormente, se puede considerar además lo siguiente:

Se puede usar la regresión multivariante de Cox y/o la regresión penalizada de red elástica (alfa=0,5) para evaluar los efectos del tratamiento con biomarcadores. Las simulaciones para identificar el valor de corte óptimo, por ejemplo, en base a LST de NanoString y la respectiva LPS, para el efecto del tratamiento se pueden realizar usando validación cruzada y/o muestreo con reposición. Se puede realizar un ajuste de pruebas múltiples estimando las tasas de descubrimiento falso (TDF), por ejemplo, usando el procedimiento de Benjamini-Hochberg (por ejemplo, significación < 5 % TDF). Se puede realizar el análisis de enriquecimiento de vías por enriquecimiento del conjunto de genes, por ejemplo, usando conjuntos de genes definidos por rasgos característicos de MSigDB y (o) un conjunto de genes con rasgos característicos de mutación somática de LF.

En particular, un valor de corte de LPS (por ejemplo, como se describe en el presente documento en otra parte) se puede determinar en (un) análisis de simulación, preferentemente en (un) análisis de simulación multivariante(s).

La solidez de un valor de corte de LPS (por ejemplo, como se describe en el presente documento en otra parte) se puede demostrar por simulaciones de muestreo con reposición.

Además, en lugar de usar el algoritmo ponderado específico de LPS, por ejemplo, de LST de NanoString, se puede aplicar el primer componente principal de un análisis de componente principal de los resultados, por ejemplo, de otro panel de análisis de expresión (por ejemplo, la herramienta de ARN TruSeq® (Illumina®, Inc.)), evaluando, por ejemplo, los genes mencionados anteriormente (por ejemplo, uno o más de los ~180 genes conocidos por separar BCG y LBA) por expresión génica. También se demostró de acuerdo con la invención que existe una correlación muy alta entre la LPS (derivada de LST de NanoString) y el primer componente principal.

En un aspecto (E), el paciente definido en el presente documento (que se va a tratar con obinutuzumab) es un paciente con translocaciones de BCL2 y/o alta expresión de BCL2. Preferentemente, en el contexto de este aspecto se prevé un paciente con BCL2 translocada con alta expresión de BCL2.

BCL2 (véase también Zhang *loc. cit.*; Punnoose *loc. cit.*; Iqbal, Clin Cancer Res 17(24), 2011, 7785 – 95; Iqbal, JCO 24(6), 2006, 961 - 8; Hu, Blood 121(20), 2013, 4021 – 31; Johnson, JCO 30(28), 2012, 3452 – 67; Green, JCO 30(28), 2012, 3460 - 67) es conocida comúnmente como una proteína antiapoptótica con una sobreexpresión que se opone a las vías apoptóticas mitocondriales. BCL2 es conocido por expresarse en tumores de pacientes con DLBCL.

Las secuencias de nucleótidos que codifican BCL2 y las secuencias de aminoácidos de BCL2, en particular BCL2 de *Homo sapiens* (ser humano), son bien conocidas en la técnica. Se pueden descargar, por ejemplo, siguiendo **Uniform Resource Locator (URL)** https://www.ncbi.nlm.nih.gov/search/?term=Homo+sapiens+BCL2&utm_expid=.fAeH_yO5JTBGxnObh2WlrCA.0&utm_referrer=https%3A%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fsearch%2F%3Fterm%3DHomo%2Bsapiens%2BBCL2. Las secuencias de nucleótidos que codifican BCL2, en particular BCL2 de *Homo sapiens* (ser humano), están disponibles, por ejemplo, por medio de los números de acceso de NCBI: XM_017025917.2 (variante X3); XM_011526135.3 (variante X2); XR_935248.3 (variante X1); NM_000657.2 (variante beta); NM_000633.2 (variante alfa). Las secuencias de aminoácidos de BCL2, en particular de BCL2 de *Homo sapiens* (ser humano), están disponibles, por ejemplo, por medio de los números de acceso de NCBI: XP_016881406.1 (isoforma X2); XP_011524437.1 (isoforma X1); NP_000648.2 (isoforma beta); NP_000624.2 (isoforma alfa). Un ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica BCL2 de *Homo sapiens* (ser humano) se representa en SEQ ID NO:13. Un ejemplo de una secuencia de aminoácidos de BCL2 de *Homo sapiens* (ser humano) se representa en SEQ ID NO:14.

Lo que se ha dicho en general en el presente documento anteriormente con respecto a "expresión", la medición/detección de ARNm (primario) y la medición/detección de proteína se aplica aquí, *mutatis mutandis*.

En general, los medios y procedimientos para medir/detectar la expresión de BCL2 y las translocaciones de BCL2 son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Zhang (*loc. cit.*) y Punnoose (*loc. cit.*). Además, el experto en la técnica puede evaluar fácilmente si una expresión de BCL2 dada es "alta" o si existe(n) (una) translocación/translocaciones de BCL2.

Además, el experto en la técnica puede elegir fácilmente un control adecuado en comparación con el que una expresión de BCL2 dada se considera "mayor" o en comparación con el que se considera que existe(n) (una) translocación/translocaciones de BCL2. En este contexto, el experto en la técnica también se puede basar, por ejemplo, en Zhang (*loc. cit.*) y Punnoose (*loc. cit.*).

La expresión de BCL2, por ejemplo, se puede evaluar por un ensayo de inmunohistoquímica (IHQ) de Ventana, por ejemplo, por el ensayo IHQ de uso en investigación de Ventana (clon de anticuerpo BCL2, 124) (atendiendo al manual del proveedor). Por ejemplo, la alta expresión de BCL2 se puede definir en este contexto como una tinción moderada o fuerte en ≥ 50 % de las células tumorales (véase a continuación para más detalles).

La expresión de proteína BCL2/aparición de proteína BCL2 también se puede medir/detectar como se describe en Punnoose (*loc. cit.*), Iqbal (2011 y 2006 *loc. cit.*), Hu (*loc. cit.*), Johnson (*loc. cit.*), Green (*loc. cit.*).

La expresión génica/aspecto de ARNm (primario), en particular la expresión génica de BCL2/aparición de ARNm (primario) de BCL2, se puede evaluar, por ejemplo, como se describe en Zhang (*loc. cit.*) o usando secuenciación de ARN TruSeq® (Illumina®, Inc.) de acuerdo con el manual del distribuidor).

"Alta expresión de BCL2" quiere decir que BCL2 se expresa a un nivel sustancialmente mayor, en particular en comparación con un control adecuado. En general, una "alta expresión de BCL2" quiere decir que la expresión de BCL2 es tan alta (por ejemplo, ± 10 % o menos, $\pm 7,5$ % o menos, ± 5 % o menos, ± 3 % o menos, ± 2 % o menos, ± 1 % o menos o incluso ± 0 %) como la expresión de BCL2 en un paciente que responde al tratamiento (es decir, un paciente que responde a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP); "paciente definido en el presente documento") y/o mayor que la expresión de BCL2 en un paciente que no responde al tratamiento (es decir, un paciente que responde a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) no alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con el tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP); distinto a "paciente definido en el presente documento"). El experto puede evaluar fácilmente cuándo la expresión de BCL2 es "alta" a este respecto y aplicar un control adecuado. Por ejemplo, un control a este respecto puede ser una población con DLBCL común, más particular pacientes con DLBCL que no están clasificados como pertenecientes al subgrupo de pacientes clasificados (distinto de "paciente definido en el presente documento"). "Alta expresión de BCL2" puede ser una expresión de BCL2 mayor que la mediana de expresión de BCL2 entre un grupo de control, por ejemplo, entre dichos grupos de control mencionados anteriormente. Por ejemplo, una "alta expresión de BCL2" y un "nivel mayor" de expresión de BCL2, respectivamente, puede ser una expresión de BCL2 que es mayor que la mediana de expresión de BCL2 entre los

pacientes evaluados en GOYA.

Un ejemplo de un control, en base al que se puede considerar si la expresión de BCL2 es "alta", es tejido normal, es decir, no tumoral, más particular tejido linfático normal, es decir, no tumoral. El tejido puede ser de un paciente con DLBCL. Por ejemplo, puede ser del paciente con DLBCL que se va a tratar. Sin embargo, en principio, el tejido también puede ser de un sujeto normal/sano.

Un ejemplo preferente de un control, en base al que se puede considerar si la expresión de BCL2 es "alta", es tejido tumoral, más particular tejido tumoral linfático de un paciente que no responde al tratamiento (distinto de "paciente definido en el presente documento"). Es preferente que el tejido sea de un paciente con DLBCL que no responde al tratamiento (distinto de "paciente definido en el presente documento" que es un paciente con DLBCL). La expresión de BCL2 se considera "alta" si, por ejemplo, $\geq 30\%$, $\geq 40\%$, $\geq 50\%$ o $\geq 60\%$ de las células tumorales expresan BCL2 (por ejemplo, muestran tinción de BCL2 en un ensayo IHQ), en particular muestran expresión de BCL2 de moderada a fuerte (por ejemplo, muestra tinción de BCL2 de moderada a fuerte en un ensayo IHQ).

Es preferente que la expresión de BCL2, en particular la expresión de BCL2 "alta", incorpore tanto el porcentaje de células tumorales que expresan BCL2 como la intensidad de la expresión de BCL2 en estas células.

Cuando se evalúa si una expresión de BCL2 dada es "alta", el experto en la técnica también se puede basar en Iqbal (2011 y 2006 *loc. cit.*), Hu (*loc. cit.*), Johnson (*loc. cit.*) y Green (*loc. cit.*).

Más general, una "alta expresión de BCL2" y un "nivel mayor" (sustancialmente) de expresión de BCL2, respectivamente, quiere decir que BCL2 se expresa a un nivel que es al menos un 10 % mayor, al menos un 20 % mayor, al menos un 30 % mayor, al menos un 40 % mayor, al menos un 50 % mayor, al menos un 75 % mayor o al menos un 100 % mayor, en particular en comparación con la expresión de BCL2 en un control adecuado (por ejemplo, "paciente/población con DLBCL común; distinto a "paciente definido en el presente documento"). Esto se aplica tanto a expresión génica como a expresión de proteínas.

El significado de "(una) translocación/translocaciones de BCL2" es bien conocido en la técnica. Típicamente, una "translocación de BCL2" es una fusión génica entre BCL2 e IgH (que implica los cromosomas 14 y 18). La(s) translocación/translocaciones de BCL2 se describen, por ejemplo, en Zhang (*loc. cit.*) Las translocaciones BCL2, por ejemplo, se pueden evaluar/detectar usando la tecnología BCL2 Dual Color Break Apart (Vysis, Abbott Molecular), en particular usando sondas Vysis LSI Dual Color Break Apart FISH Probes, (por ejemplo, con un valor de corte (FISH) de un 5 % (usado típicamente) o un 50 %); atendiendo al manual del proveedor.

Las translocaciones de BCL2 también se pueden evaluar/detectar con el ensayo de secuenciación de segunda generación de Foundation Medicine, FoundationOne® Heme (atendiendo al manual del proveedor; véase también He *loc. cit.*).

Los medios y procedimientos para evaluar/detectar translocaciones de BCL2 son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Zhang *loc. cit.* y He (*loc. cit.*).

El experto en la técnica puede elegir fácilmente una muestra apropiada que se va a usar cuando se evalúa/detecta (una) translocación/translocaciones de BCL2 o expresión de BCL2 (como muestra de prueba o bien como muestra de control).

Un ejemplo particular de una muestra que se va a emplear (como muestra de prueba o bien como muestra de control) para evaluar/detectar si existe una alta expresión de BCL2 es una muestra (por ejemplo, biopsia) de un tumor (que expresa BCL2).

Un ejemplo particular de una muestra que se va a emplear (como muestra de prueba o bien como muestra de control) para evaluar/detectar si existe(n) translocación/translocaciones de BCL2 es una muestra de ADN.

En un ejemplo (F), el paciente definido en el presente documento (que se va a tratar con obinutuzumab) se define por una combinación/una intersección de cualquier 2, cualquier 3, cualquier 4 o cualquier 5 de las definiciones de pacientes mencionadas en A, B, C, D y E *supra*. Es decir, el paciente se puede definir por una combinación/una intersección de las definiciones de paciente a las que se hace referencia en A y B; A y C; A y D; A y E; B y C; B y D; B y E; C y D; C y E; A, B y C; A, C y D; A, D y E; A, B y D; A, B y E; A, C y E; B, C y D; B, C y E; B, D y E; C, D y E; A, B, C y D; A, C, D y E; B, C, D y E; y A, B, D y E. Son preferentes las combinaciones/intersecciones que comprenden las definiciones de acuerdo con D y E.

En un ejemplo (G), el paciente definido en el presente documento (que se va a tratar con obinutuzumab) se define por una combinación/una intersección de las definiciones de paciente mencionadas en D y E (o A, D y E), *supra*. Es decir, el paciente definido en el presente documento de acuerdo con este ejemplo es un paciente (i) con/que padece DLBCL BCG fuerte; y (ii) con translocaciones de BCL2 y/o alta expresión de BCL2. Esta combinación/intersección de definiciones de paciente define un paciente preferente definido en el presente

documento.

En general, un ejemplo de un "control" es preferentemente un control "que no responde al tratamiento", por ejemplo, una muestra/célula/tejido obtenido de uno o más pacientes que no padecen el DLBCL particular como se define en el presente documento (distinto de "paciente definido en el presente documento") y que es conocido por no responder ventajosamente a obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) en comparación con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP).

Otro ejemplo de un control "que no responde al tratamiento" es una línea celular/muestra/célula/tejido que no muestra una respuesta mejorada a obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con quimioterapia CHOP) en comparación con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) en un ensayo *ex vivo*. Otro ejemplo no limitante de un "control" es un "estándar interno", por ejemplo proteínas, péptidos, ADN y/o ARN purificados o producidos sintéticamente, o una mezcla de los mismos, donde la cantidad de cada proteína/péptido/ADN/ARN se mide usando el control "que no responde al tratamiento" descrito en el presente documento.

En principio, se prevé que el paciente que se va a tratar sea un paciente con DLBCL. En otras palabras, el paciente es un paciente con/que padece DLBCL. En consecuencia, se prevé en particular que también el paciente definido con respecto a cualquiera de A, B, C, D, E, F, G, *supra*, sea un paciente con DLBCL y un paciente con/que padezca DLBCL, respectivamente. Sin embargo, no se requiere necesariamente que un paciente dado se diagnostique como paciente con DLBCL, por ejemplo, antes (o después) de la determinación/identificación/diagnóstico como paciente como se define en el presente documento, en particular como se define en uno (o más) de A a G, *supra*. Sin embargo, es preferente que el paciente que se va a tratar de acuerdo con la invención, en una primera etapa, se diagnostique como un paciente con DLBCL, o al menos como un paciente con linfoma, y, en una segunda etapa, se determine/identifique/diagnostique como un paciente definido en el presente documento, en particular un paciente como se define en uno (o más) de los aspectos/modos de realización A a G, *supra*. En principio, de acuerdo con la invención, un paciente dado, en una primera etapa, también se puede determinar/identificar/diagnosticar como un paciente definido en el presente documento y, en una segunda etapa, diagnosticar como un paciente con DLBCL, o al menos como un paciente con linfoma. Sin embargo, la última opción es menos preferente y, como se menciona, también se puede omitir la etapa (anterior o posterior) de diagnosticar si el paciente que se va a tratar es un paciente con (DLBCL).

A continuación se proporciona un ejemplo no limitante de una forma en que el médico especialista elegiría si un paciente dado se debe tratar:

De un paciente, por ejemplo, con una anomalía que eleva la sospecha clínica de linfoma (por ejemplo, linfadenomegalias), se puede tomar una muestra (tumoral) (por ejemplo, biopsia (tumoral)). La muestra (tumoral) se puede diagnosticar como (DLBCL) positiva (por ejemplo, por un anatomopatólogo). Esta puede ser una de las 2 dos etapas mencionadas anteriormente.

Como se menciona, esta etapa se puede omitir.

De (un resto de la) muestra (tumoral) (por ejemplo, tejido/biopsia (tumoral)), o de otra muestra (tumoral) del mismo u otro paciente, o de otro tumor del mismo u otro paciente, se puede extraer proteína, ARN (por ejemplo, ARNm (primario)) y/o ADN. El paciente definido en el presente documento a continuación se puede determinar/identificar/diagnosticar, es decir, a continuación se puede(n) realizar análisis de biomarcadores, con la proteína, ARN (por ejemplo, ARNm (primario)) y/o ADN de muestra. Por ejemplo, las muestras se pueden analizar con el ensayo de expresión génica ponderada (por ejemplo, usando LST de NanoString) para obtener la LPS, sometidas a prueba para determinar (a) mutación(mutaciones) genética(s) en *CD58* y/o baja expresión de *CD58* y/o sometidas a prueba para determinar translocaciones de *BCL2* y/o alta expresión de *BCL2*. A continuación, los resultados del/de los análisis permiten clasificar al paciente en los subgrupos de DLBCL definidos en el presente documento.

En otras palabras, a continuación los resultados del/de los análisis permiten clasificar si el paciente es un "paciente definido en el presente documento". Esta puede ser la otra de las 2 dos etapas mencionadas anteriormente (es decir, la etapa obligatoria).

Se pueden emplear ejemplos no limitantes del/de los análisis de biomarcadores de acuerdo con lo siguiente:

Se puede tomar de un paciente una muestra tumoral, por ejemplo, una muestra tumoral de diagnóstico (por ejemplo, biopsia tisular), por ejemplo fijada con formol y/o incluida en parafina. Se puede extraer ARN (o proteína o ADN) y se puede analizar la expresión génica para determinar la clasificación de BCG fuerte, translocación/baja expresión de *CD58* y/o mutación/mutaciones/baja expresión de *BCL2*. Se puede extraer ADN para evaluar (una) mutación/mutaciones de *CD58*. Se pueden cortar e incluir cortes tisulares, en particular cortes de tejido tumoral,

por ejemplo, para análisis IHQ y/o (F)ISH.

Como se menciona, se prevé en el contexto de la invención el uso de obinutuzumab, o un equivalente funcional de obinutuzumab, para tratar al paciente definido en el presente documento. El equivalente funcional de obinutuzumab de acuerdo con la invención es un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humanizado que comprende

(a) una región variable de la cadena pesada como se representa en SEQ ID NO:1 o como se comprende en SEQ ID NO:5 (residuos aminoácidos 1 a 119) y una región variable de la cadena ligera como se representa en SEQ ID NO:2 o como se comprende en SEQ ID NO:6 (residuos aminoácidos 1 a 115); o

(b) una región variable de la cadena pesada que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:7 y una región variable de la cadena ligera que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:4 o SEQ ID NO:8,

en el que dicho anticuerpo puede provocar un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) en comparación con rituximab, puede provocar un incremento en la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) en comparación con rituximab y/o tiene un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab.

El propio obinutuzumab es bien conocido en la técnica y se describe, por ejemplo, en los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859. Véase a continuación para más detalles sobre el propio obinutuzumab.

También el significado de "equivalente funcional de obinutuzumab" es claro para el experto en la técnica. En particular, el término "equivalente funcional de obinutuzumab" se refiere a un anticuerpo, en particular a un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humanizado, que es más adecuado para tratar (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) al paciente definido en el presente documento que rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). En otras palabras, este término se refiere a un anticuerpo, en particular un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humano, con rasgos característicos y mecanismos de acción (MDA) que hacen que el anticuerpo pueda tratar a un paciente definido en el presente documento de modo que responda alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab. Más particular, el término "equivalente funcional de obinutuzumab" se refiere a un anticuerpo, en particular un anticuerpo anti-CD20 de tipo II, que tiene los mismos rasgos característicos y funciones biológicas que el propio obinutuzumab, en particular las mismas funciones biológicas que el propio obinutuzumab, lo que hace que el anticuerpo sea más adecuado para tratar al paciente definido en el presente documento que rituximab.

Los ejemplos de los rasgos característicos y MDA más pertinentes de un equivalente de obinutuzumab de acuerdo con la invención (y del propio obinutuzumab) se definen en el presente documento en otra parte. Se pueden determinar fácilmente por el experto en la técnica.

En principio, se prevé que el término "equivalente funcional de obinutuzumab" también cubra los biosimilares de obinutuzumab. En particular, se prevé que el significado de ese término también cubra cualquier biosimilar de obinutuzumab que sea más adecuado para tratar al paciente definido en el presente documento que rituximab. En otras palabras, el "equivalente funcional de obinutuzumab" puede ser un biosimilar de obinutuzumab que puede tratar a un paciente definido en el presente documento de modo que responda alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP).

En general, el significado de "biosimilar" es bien conocido en la técnica. En este contexto, un "biosimilar" es conocido por ser un producto médico biológico que es casi una copia idéntica de un producto médico biológico original y también es conocido como medicamento biológico similar o medicamento biológico de entrada posterior. Los biosimilares son versiones aprobadas oficialmente de productos "innovadores" originales. En este contexto, se hace referencia, por ejemplo, a la guía de EMEA sobre Similar Biological Medicine Products (CHMP/437/04 London, 2005).

En el contexto de la invención, se prevé que obinutuzumab, en particular el equivalente funcional de obinutuzumab, sea un anticuerpo, en particular un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humanizado, que comprende

(a) una región variable de la cadena pesada como se representa en SEQ ID NO:1 y una región variable de la cadena ligera como se representa en SEQ ID NO:2 (esta región variable de la cadena ligera también es conocida como región variable de la cadena ligera KV1; "KV1" significa la región variable de la cadena ligera humanizada del anticuerpo monoclonal B-Lyl murino, véase el documento EP-B1 2380910); o

(b) una región variable de la cadena pesada que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % idéntica a SEQ ID NO: 3 y una región variable de la cadena ligera que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que

es al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % idéntica a SEQ ID NO: 4 (los valores mayores son preferentes), en el que dicho anticuerpo puede provocar un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) en comparación con rituximab, puede provocar un incremento en la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) en comparación con rituximab y/o tiene un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab.

Es preferente que obinutuzumab, en particular el equivalente funcional de obinutuzumab que se va a emplear, sea un anticuerpo monoclonal, en particular un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humanizado monoclonal.

En particular es preferente que el anticuerpo que se va a emplear de acuerdo con la invención sea un anticuerpo anti-CD20 de tipo II, en particular un anticuerpo monoclonal anti-CD20 de tipo II humanizado, o, preferentemente y, un anticuerpo que comprende una región Fc glucomanipulada, en particular, una región Fc glucomanipulada como se define en el presente documento a continuación. Es preferente además que, de acuerdo con la invención, dicho anticuerpo, o cualquier otro anticuerpo que se va a emplear de acuerdo con la invención, muestre niveles sustancialmente mayores de actividad ADCC, en particular en comparación con un anticuerpo anti-CD20 de tipo I comparable y/o en comparación con un anticuerpo no glucomanipulado (por ejemplo, rituximab).

El significado de anticuerpo anti-CD20 de "tipo II" es bien conocido en la técnica. En general, los anticuerpos monoclonales anti-CD20 se dividen en dos categorías distintas en base a su mecanismo de acción para erradicar células de linfoma. Los anticuerpos anti-CD20 de tipo I utilizan principalmente el complemento para destruir células diana, mientras que los anticuerpos de tipo II funcionan por diferentes mecanismos, principalmente apoptosis. Rituximab y 1F5 son ejemplos de anticuerpos anti-CD20 de tipo I, mientras que B 1 es un ejemplo de un anticuerpo de tipo II. Véase, por ejemplo, Cragg (Blood 103(7), 2004, 2738-2743); Teeling (Blood 104(6), 2004, 1793-1800). Además, el propio obinutuzumab es un anticuerpo de tipo II. Véanse, por ejemplo, los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859.

El experto en la técnica conoce, sino al menos puede determinar fácilmente, los residuos determinantes de especificidad pertinentes de las regiones variables de la cadena pesada y ligera de obinutuzumab. En cuanto a la respectiva guía, el experto en la técnica se puede basar, por ejemplo, en los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859.

En un aspecto, se prevé que obinutuzumab/el equivalente funcional de obinutuzumab como se emplea, en particular como se define en (b), *supra*, tenga, entre otros, uno o más de los siguientes rasgos característicos:

(i) capacidad de inducir niveles mayores de apoptosis cuando se incuba con células humanas positivas para CD20 en relación con un control en condiciones idénticas usando rituximab;

(ii) capacidad de provocar un incremento de la destrucción de linfocitos B tumorales CD20⁺ en comparación con rituximab;

(iii) capacidad de provocar un incremento en la muerte celular directa en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a una geometría de unión alternativa (por ejemplo, modificación de la bisagra del codo));

(iv) capacidad de provocar una disminución en la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a una geometría de unión alternativa (por ejemplo, modificación de la bisagra del codo));

(v) capacidad de provocar un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a la región Fc glucomanipulada);

(vi) capacidad de provocar un incremento en la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a la región Fc glucomanipulada);

(vii) un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a la región Fc glucomanipulada);

(viii) capacidad de desencadenar, tras la unión a CD20, menos internalización de CD20 de superficie en comparación con rituximab.

En otro aspecto, se prevé que obinutuzumab/el equivalente funcional de obinutuzumab como se emplea, en particular como se define en (b), *supra*, muestre, entre otros, uno o más de los siguientes MDA:

(i) capacidad de inducir niveles mayores de apoptosis cuando se incuba con células humanas positivas para CD20 en relación con un control en condiciones idénticas usando rituximab;

- (iii) capacidad de provocar un incremento en la muerte celular directa en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a una geometría de unión alternativa (por ejemplo, modificación de la bisagra del codo));
- 5 (iv) capacidad de provocar una disminución en la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a una geometría de unión alternativa (por ejemplo, modificación de la bisagra del codo));
- 10 (v) capacidad de provocar un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a la región Fc glucomanipulada);
- (vi) capacidad de provocar un incremento en la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a la región Fc glucomanipulada);
- 15 (vii) un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab (sin quedar vinculado a ninguna teoría, esto se debe a la región Fc glucomanipulada);
- (viii) capacidad de desencadenar, tras la unión a CD20, menos internalización de CD20 de superficie en comparación con rituximab.
- 20 Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar los rasgos característicos pertinentes de un anticuerpo que se va a emplear (por ejemplo, funciones biológicas, MDA) son bien conocidos en la técnica y se pueden aplicar fácilmente por el experto en la técnica.
- 25 Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar el nivel de apoptosis, en particular si un anticuerpo dado puede inducir niveles mayores de apoptosis cuando se incuba con células humanas positivas para CD20 en relación con un control en condiciones idénticas usando rituximab, son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859.
- 30 Un "nivel mayor de apoptosis" quiere decir, por ejemplo, al menos 1,2 veces mayor, al menos 1,5 veces mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor, o al menos 10 veces mayor en comparación con el nivel de apoptosis resultante de una aplicación comparable de rituximab.
- 35 Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar la muerte de linfocitos B tumorales CD20⁺, en particular si existe un incremento en la muerte de linfocitos B tumorales CD20⁺ en comparación con rituximab, son conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, en los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859.
- 40 La muerte de linfocitos B tumorales CD20⁺ se "incrementa", si es, por ejemplo, al menos 1,2 veces mayor, al menos 1,5 veces mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor, o al menos 10 veces mayor en comparación con la muerte de linfocitos B tumorales CD20⁺ resultante de una aplicación comparable de rituximab.
- 45 Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar la muerte celular directa, en particular si existe un incremento en la muerte celular directa en comparación con rituximab, son conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, en los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859.
- 50 La muerte celular directa se "incrementa", si es al menos 1,2 veces mayor, al menos 1,5 veces mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor o al menos 10 veces mayor en comparación con la muerte celular directa resultante de una aplicación comparable de rituximab.
- 55 Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar CDC, en particular si existe una disminución en la CDC en comparación con rituximab, son conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, en Herter (*loc. cit.*), Mössner (*loc. cit.*), documentos EP-B1 238090, WO 2005/044859, WO 2015/067586 y WO 2016/207312.
- 60 CDC se "disminuye", si es, por ejemplo, al menos 1,2 veces menor, al menos 1,5 veces menor, al menos 2 veces menor, al menos 3 veces menor, al menos 4 veces menor, al menos 5 veces menor, o al menos 10 veces menor en comparación con la CDC resultante de una aplicación comparable de rituximab.
- 65 El término "citotoxicidad dependiente del complemento (CDC)" se refiere a la lisis de células diana tumorales humanas por el anticuerpo que se va a emplear en presencia del complemento. La CDC se mide preferentemente por el tratamiento de una preparación de células que expresan CD20 con un anticuerpo anti-CD20 que se va a emplear en presencia del complemento. La CDC se encuentra si el anticuerpo induce, por ejemplo a una concentración de 100 nM, la lisis (muerte celular) de, por ejemplo, un 20 % o más de las células tumorales después de, por ejemplo, 4 horas. El ensayo se realiza preferentemente con células tumorales marcadas con ⁵¹Cr o Eu y medición de ⁵¹Cr o Eu liberado. Los controles incluyen la incubación de las células tumorales diana con complemento pero con rituximab y, opcionalmente, sin el anticuerpo.

El experto en la técnica puede adaptar fácilmente este ejemplo particular de un ensayo de CDC para poder someter a prueba si la actividad CDC disminuye tras la aplicación de un anticuerpo que se va a usar en comparación con la aplicación de rituximab, según sea el caso.

Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar ADCC, en particular si existe un incremento en la ADCC en comparación con rituximab, son conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, en Herter (*loc. cit.*), Mössner (*loc. cit.*), Tobinai (Adv. Then 34, 2017, 324–56), documentos EP-B1 2380910, WO 2005/044859, WO 2015/067596 y WO 2016/207312.

ADCC, más en general, se "incrementa", si es, por ejemplo, al menos 1,2 veces mayor, al menos 1,5 veces mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor o al menos 10 veces mayor en comparación con la ADCC resultante de una aplicación comparable de rituximab.

Un ensayo de ADCC *in vitro* aceptado, no limitante, es como sigue:

1) el ensayo usa células diana que son conocidas por expresar el antígeno diana reconocido por la región de unión a antígeno del anticuerpo (CD20);

2) el ensayo usa células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas, aisladas de sangre de un donante sano elegido al azar, como células efectoras;

3) el ensayo se lleva a cabo de acuerdo con el siguiente protocolo:

i) se aíslan las PBMC usando procedimientos de centrifugación por densidad estándar y se suspenden a 5×10^6 células/ml en medio de cultivo celular RPMI;

ii) se cultivan las células diana por procedimientos de cultivo tisular estándar, se recogen de la fase de crecimiento exponencial con una viabilidad mayor de un 90 %, se lavan en medio de cultivo celular RPMI, se marcan con 100 microcurios de ^{51}Cr , se lavan dos veces con medio de cultivo celular y se resuspenden en medio de cultivo celular a una densidad de 10^5 células/ml;

iii) se transfieren 100 microlitros de la suspensión de células diana final anterior a cada pocillo de una placa de microvaloración de 96 pocillos;

iv) se diluye el anticuerpo en serie de 4000 ng/ml a 0,04 ng/ml en medio de cultivo celular y se añaden 50 microlitros de las soluciones de anticuerpo resultantes a las células diana en la placa de microvaloración de 96 pocillos, sometiendo a prueba por triplicado diversas concentraciones de anticuerpo que abarcan todo el intervalo de concentraciones anterior;

v) para los controles de liberación máxima (MR), 3 pocillos adicionales en la placa que contiene las células diana marcadas reciben 50 microlitros de una solución acuosa al 2 % (VN) de un detergente no iónico (Nonidet, Sigma, St. Louis), en lugar de la solución de anticuerpo (punto iv anterior);

vi) para los controles de liberación espontánea (SR), 3 pocillos adicionales en la placa que contiene las células diana marcadas reciben 50 microlitros de medio de cultivo celular RPMI en lugar de la solución de anticuerpo (punto iv anterior);

vii) a continuación, se centrifuga la placa de microvaloración de 96 pocillos a $50 \times g$ durante 1 minuto y se incuba durante 1 hora a 4°C ;

viii) se añaden 50 microlitros de la suspensión de PBMC (punto i anterior) a cada pocillo para proporcionar una proporción de células efectoras:diana de 25:1 y se disponen las placas en una estufa de incubación en una atmósfera con CO_2 al 5 % a 37°C durante 4 horas;

ix) se recoge el sobrenadante sin células de cada pocillo y se cuantifica la radioactividad liberada experimentalmente (ER) usando un contador gamma;

x) se calcula el porcentaje de lisis específica para cada concentración de anticuerpo de acuerdo con la fórmula $(\text{ER}-\text{MR})/(\text{MR}-\text{SR}) \times 100$, donde ER es la radioactividad promedio cuantificada (véase el punto ix anterior) para esa concentración de anticuerpo, MR es la radioactividad promedio cuantificada (véase el punto ix anterior) para los controles de MR (véase el punto v anterior) y SR es la radioactividad promedio cuantificada (véase el punto ix anterior) para los controles de SR (véase el punto vi anterior);

4) "incremento en la ADCC" se define como un incremento en el porcentaje máximo de lisis específica observada dentro del intervalo de concentraciones de anticuerpo sometido a prueba anterior y/o bien una reducción en la

concentración de anticuerpo requerida para lograr la mitad del porcentaje máximo de lisis específica observada dentro del intervalo de concentraciones de anticuerpo sometido a prueba anterior. El incremento en la ADCC es relativo a la ADCC, medida con el ensayo anterior, mediada por el mismo anticuerpo, producido por el mismo tipo de células huésped, usando los mismos procedimientos estándar de producción, purificación, formulación y almacenamiento, que son conocidos por los expertos en la técnica, pero que no se ha producido por células huésped genomanipuladas para sobreexpresar GnTIII.

El experto en la técnica puede adaptar fácilmente este ejemplo particular de un ensayo de ADCC para poder someter a prueba si la actividad ADCC se incrementa tras la aplicación de un anticuerpo que se va a usar en comparación con la aplicación de rituximab, según sea el caso.

Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar ADCP, en particular si existe un incremento en ADCP en comparación con rituximab, son conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, en Herter (*loc. cit.*) y Mössner (*loc. cit.*).

ADCP se "incrementa", si es, por ejemplo, al menos 1,2 veces mayor, al menos 1,5 veces mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor, o al menos 10 veces mayor en comparación con la ADCP resultante de una aplicación comparable de rituximab.

Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar la afinidad por los receptores FcγRIII, en particular si existe un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab, son conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, en Tobinai (*loc. cit.*)

La afinidad por los receptores FcγRIII se "incrementa", si es, por ejemplo, al menos 1,2 veces mayor, al menos 1,5 veces mayor, al menos 2 veces mayor, al menos 3 veces mayor, al menos 4 veces mayor, al menos 5 veces mayor, o al menos 10 veces mayor en comparación con la afinidad por los receptores FcγRIII resultante de una aplicación comparable de rituximab.

Los medios y procedimientos que se pueden usar para determinar la capacidad de desencadenar la internalización de CD20 de superficie (tras unirse a un anticuerpo anti-CD20), en particular si existe la capacidad de desencadenar menos internalización de CD20 de superficie (cuando se une a obinutuzumab) en comparación con rituximab, son conocidos en la técnica y se divulgan, por ejemplo, se describen en Lim (Blood 118(9), 2011, 2530-40).

De acuerdo con la invención, la internalización de CD20 de superficie es "menor", si es, por ejemplo, al menos 1,2 veces menor, al menos 1,5 veces menor, al menos 2 veces menor, al menos 3 veces menor, al menos 4 veces menor, al menos 5 veces menor o al menos 10 veces menor en comparación con la capacidad para desencadenar la internalización de CD20 de superficie resultante de una aplicación comparable de rituximab.

Como se menciona, es preferente en el contexto de la invención que obinutuzumab/el equivalente funcional de obinutuzumab que se va a emplear en el contexto de la invención comprenda una región Fc glucomanipulada. En este contexto, también se hace referencia a los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859.

Es en particular preferente que la región Fc del anticuerpo que se va a emplear esté glucomanipulada de modo que el anticuerpo tenga uno o más de los rasgos característicos y MDA, respectivamente, mencionados anteriormente, más particular en las secciones (v), (vi) y (vii), *supra*. El rasgo característico/MDA de la sección (v) es el más preferente a este respecto (incremento en ADCC).

Obinutuzumab/el equivalente funcional de obinutuzumab que se va a emplear puede tener un incremento en la fracción de oligosacáridos no fucosilados unidos a dicha región Fc glucomanipulada. Obinutuzumab/el equivalente funcional de obinutuzumab que se va a emplear puede tener un incremento en la fracción de oligosacáridos bisectados no fucosilados unidos a dicha región Fc glucomanipulada. Obinutuzumab/el equivalente funcional de obinutuzumab que se va a emplear puede tener niveles significativamente mayores de unión a los receptores FcγRIII humanos en relación con el anticuerpo no glucomanipulado y/o en relación con rituximab.

Como se menciona, es preferente en el contexto de la invención que obinutuzumab/el equivalente funcional de obinutuzumab que se va a emplear en el contexto de la invención, en particular como se define en (b), *supra*, presente niveles significativamente mayores de actividad ADCC, en particular en relación con el anticuerpo no glucomanipulado y/o en relación con rituximab. Sin quedar vinculado a ninguna teoría, los niveles significativamente mayores de actividad ADCC resultan de la región Fc glucomanipulada (véase anteriormente).

El experto en la técnica puede glucomanipular fácilmente la región Fc de un anticuerpo para lograr un anticuerpo que se va a emplear, por ejemplo, como se menciona anteriormente y de manera que recupere el/los rasgo(s) característico(s)/MDA pertinente(s). Además, el experto en la técnica puede deducir fácilmente lo que es un incremento en la fracción de oligosacáridos no fucosilados y un incremento en la fracción de oligosacáridos no fucosilados bisectados. En este contexto, el experto en la técnica se puede basar, entre otros, en la guía proporcionada por los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859. Los ejemplos no limitantes de dichos

incrementos son incrementos de al menos 1,2 veces, al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces o al menos 10 veces (en relación con el anticuerpo no glucomanipulado).

Los términos "identidad" o "idéntico" o "porcentaje de identidad" o "identidad de secuencia" en el contexto de dos (o más) secuencias de ácido nucleico se refieren a dos (o más) secuencias o subsecuencias que son iguales, o que tienen un porcentaje especificado de nucleótidos que son iguales (preferentemente al menos un 80 % de identidad, más preferentemente al menos un 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 % o 98 % de identidad, más preferentemente al menos un 99 % identidad), cuando se comparan y alinean para la máxima correspondencia sobre una ventana de comparación, o sobre una región designada como se mide usando un algoritmo de comparación de secuencias como es conocido en la técnica, o por alineación manual e inspección visual. Las secuencias que tienen, por ejemplo, de un 80 % a un 90 % o más de identidad de secuencia se pueden considerar sustancialmente idénticas. Dicha definición también se aplica al complemento de una secuencia de prueba. La identidad descrita puede existir en una región que tiene al menos aproximadamente de 15 a 25 nucleótidos de longitud, en una región que tiene al menos aproximadamente de 50 a 100 nucleótidos de longitud o en una región que tiene al menos aproximadamente de 800 a 1200 nucleótidos de longitud (o durante toda la longitud de la secuencia). Los expertos en la técnica sabrán cómo determinar el porcentaje de identidad entre secuencias usando, por ejemplo, algoritmos tales como los basados en el programa informático CLUSTALW (Thompson Nucl. Acids Res. 2 (1994), 4673-4680) o FASTDB (Brutlag Comp. App. Biosci. 6 (1990), 237-245), como es conocido en la técnica.

Aunque el algoritmo FASTDB típicamente no considera las delecciones o adiciones no coincidentes internas en las secuencias, es decir, huecos, en su cálculo, esto se puede corregir manualmente para evitar una sobreestimación del % de identidad. CLUSTALW, sin embargo, tiene en cuenta los huecos de secuencia en sus cálculos de identidad. También están disponibles para los expertos en esta técnica los algoritmos BLAST y BLAST 2.0 (Altschul, (1997) Nucl. Acids Res. 25:3389-3402; Altschul (1993) J. Mol. Evol. 36:290-300; Altschul (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410). El programa BLASTN para secuencias de ácidos nucleicos usa por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M=5, N=4 y una comparación de ambas hebras. La matriz de puntuación BLOSUM62 (Henikoff (1989) PNAS 89:10915) usa alineaciones (B) de 50, expectativas (E) de 10, M=5, N=4 y una comparación de ambas hebras.

Para determinar si un residuo nucleotídico en una secuencia de ácido nucleico corresponde a una determinada posición en una secuencia de nucleótidos dada, el experto en la técnica puede usar medios y procedimientos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, alineaciones, manualmente o bien usando programas informáticos tales como los mencionados en el presente documento. Por ejemplo, se puede usar BLAST 2.0, que significa herramienta de búsqueda de alineación local básica BLAST (Altschul (1997), *loc. cit.*; Altschul (1993), *loc. cit.*; Altschul (1990), *loc. cit.*), para buscar alineaciones de secuencias locales. BLAST, como se analiza anteriormente, produce alineaciones de secuencias de nucleótidos para determinar la similitud de secuencia. Debido a la naturaleza local de las alineaciones, BLAST es especialmente útil para determinar coincidencias exactas o identificar secuencias similares. La unidad fundamental de la salida del algoritmo BLAST es el par de segmentos de puntuación alta (HSP). Un HSP consiste en dos fragmentos de secuencia de longitudes arbitrarias pero iguales con una alineación que es localmente máxima y para los que la puntuación de alineación cumple o supera una puntuación umbral o de corte establecida por el usuario. El enfoque BLAST consiste en buscar HSP entre una secuencia de consulta y una secuencia de base de datos, evaluar la significación estadística de cualquier coincidencia hallada e informar solo de las coincidencias que satisfacen el valor umbral de significación seleccionado por el usuario. El parámetro E establece el umbral estadísticamente significativo para informar de coincidencias de secuencias de bases de datos. E se interpreta como el límite superior de la frecuencia de aparición fortuita esperada de un HSP (o conjunto de HSP) dentro del contexto de toda la búsqueda en la base de datos. Cualquier secuencia de base de datos con una coincidencia que satisfaga E se informa en la salida del programa.

Se usan técnicas informáticas análogas que usan BLAST (Altschul (1997), *loc. cit.*; Altschul (1993), *loc. cit.*; Altschul (1990), *loc. cit.*) para buscar moléculas idénticas o relacionadas en bases de datos de nucleótidos tales como GenBank o EMBL. Este análisis es mucho más rápido que las hibridaciones basadas en membranas múltiples. Además, la sensibilidad de la búsqueda informática se puede modificar para determinar si una coincidencia particular se clasifica como exacta o similar. La base de la búsqueda es la puntuación del producto que se define como:

$$\frac{\% \text{ de identidad de secuencia} \times \% \text{ de puntuación BLAST máxima}}{100}$$

y tiene en cuenta tanto el grado de similitud entre dos secuencias como la longitud de la coincidencia de secuencias. Por ejemplo, con una puntuación de producto de 40, la coincidencia será exacta dentro de un error de un 1-2 %; y a 70, la coincidencia será exacta. Las moléculas similares normalmente se identifican seleccionando las que muestran puntuaciones de producto entre 15 y 40, aunque puntuaciones menores pueden identificar moléculas relacionadas. Otro ejemplo de un programa que puede generar alineaciones de secuencias es el programa informático CLUSTALW (Thompson (1994) Nucl. Acids Res. 2:4673-4680) o FASTDB (Brutlag (1990) Comp. App. Biosci. 6:237-245), como es conocido en la técnica.

En general, los términos "anticuerpo", "anticuerpos" o "equivalentes funcionales de los mismos" como se usa en el presente documento son términos reconocidos en la técnica y se entiende que se refieren a moléculas o fragmentos activos de moléculas que se unen a antígenos conocidos, en particular a moléculas de inmunoglobulina y a porciones inmunológicamente activas de moléculas de inmunoglobulina, es decir, moléculas que contienen un sitio de unión que se une inmunoespecíficamente a un antígeno. La inmunoglobulina, en principio, puede ser de cualquier tipo (IgG, IgM, IgD, IgE, IgA e IgY) o clase (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2) o subclases de molécula de inmunoglobulina.

Se pretende que los "anticuerpos" incluyan anticuerpos monoclonales, policlonales, quiméricos, monocatenarios, biespecíficos, símicos, humanos y humanizados, así como fragmentos activos de los mismos. Los ejemplos de fragmentos activos de moléculas que se unen a antígenos conocidos incluyen fragmentos Fab y F(ab')₂, incluyendo los productos de una colección de expresión de inmunoglobulina Fab y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anticuerpos y fragmentos mencionados anteriormente.

Estos fragmentos activos se pueden derivar de un anticuerpo particular (por ejemplo, obinutuzumab) por una serie de técnicas. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales purificados se pueden escindir con una enzima, tal como pepsina, y someterse a filtración en gel de HPLC. A continuación, la fracción apropiada que contiene fragmentos Fab se puede recoger y concentrar por filtración por membrana y similares. Para una descripción adicional de técnicas generales para el aislamiento de fragmentos activos de anticuerpos, véanse, por ejemplo, Khaw, B. A. *et al.* J. Nucl. Med. 23:1011-1019 (1982); Rousseaux *et al.* Methods Enzymology, 121:663-69, Academic Press, 1986.

Un "anticuerpo humanizado" se refiere a un tipo de anticuerpo genomanipulado que tiene su CDR derivadas de una inmunoglobulina de donante no humano, y derivándose las partes derivadas de inmunoglobulina restantes de la molécula de una (o más) inmunoglobulina(s) humana(s).

Un anticuerpo humanizado se puede referir además a un anticuerpo que tiene una región variable donde una o más de sus regiones estructurales tienen aminoácidos humanos (o de primate). Además, los residuos de soporte estructurales se pueden alterar para preservar la afinidad de unión. Los procedimientos para obtener "anticuerpos humanizados" son bien conocidos para los expertos en la técnica. (véanse, por ejemplo, Queen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:10029-10032 (1989), Hodgson *et al.*, Bio/Technology, 9:421 (1991)).

También se puede obtener un "anticuerpo humanizado" por un enfoque de genomanipulación novedoso que permite la producción de anticuerpos policlonales de tipo humano madurados en afinidad en animales grandes tales como, por ejemplo, conejos (<http://www.rctech.com/bioventures/therapeutic.php>).

El término "anticuerpo monoclonal" también es bien conocido en la técnica y se refiere a un anticuerpo que se produce en masa en el laboratorio a partir de un solo clon y que reconoce solo un antígeno. Los anticuerpos monoclonales típicamente se fabrican fusionando un linfocito B productor de anticuerpos, normalmente de vida corta, con una célula de crecimiento rápido, tal como una célula cancerosa (a veces denominada célula "inmortal"). La célula híbrida resultante, o hibridoma, se multiplica rápidamente y crea un clon que produce grandes cantidades del anticuerpo.

El término "antígeno" se refiere a una entidad o fragmento de la misma que puede inducir una respuesta inmunitaria en un organismo, en particular un animal, más en particular un mamífero incluyendo un ser humano. El término incluye inmunógenos y regiones responsables de antigenicidad o determinantes antigénicos.

Como se usa en el presente documento, el término "soluble" quiere decir parcial o completamente disuelto en una solución acuosa.

También como se usa en el presente documento, el término "inmunógeno" se refiere a sustancias que provocan o potencian la producción de anticuerpos, linfocitos T y otras células inmunitarias reactivas dirigidas contra un agente inmunógeno y contribuyen a una respuesta inmunitaria en seres humanos o animales.

El término "hibridoma" se reconoce en la técnica y se entiende por los expertos en la técnica que se refiere a una célula producida por la fusión de una célula productora de anticuerpos y una célula inmortal, por ejemplo, una célula de mieloma múltiple. Esta célula híbrida puede producir un suministro continuo de anticuerpos. Véase la definición de "anticuerpo monoclonal" anterior para obtener una descripción más detallada del procedimiento de fusión.

En un aspecto, se prevé que el equivalente funcional de obinutuzumab comprenda la región de la cadena pesada constante del propio obinutuzumab (por ejemplo, las posiciones aminoacídicas 120 a 449 de SEQ ID NO. 5), o la región de la cadena ligera constante del propio obinutuzumab (por ejemplo, las posiciones aminoacídicas 116 a 219 de SEQ ID NO. 6), o ambas, las regiones de la cadena pesada y ligera constantes del propio obinutuzumab. La secuencia de aminoácidos de la región de la cadena pesada y/o ligera constante que está comprendida en el equivalente funcional del obinutuzumab puede ser un 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la región

de la cadena pesada y/o ligera constante del propio obinutuzumab. Sin embargo, también puede variar hasta cierto punto de esta(s) secuencia(s) de aminoácidos. Por ejemplo, puede ser al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 98 %, al menos un 99 % idéntica a la respectiva secuencia de aminoácidos del propio obinutuzumab. Sin embargo, se prevé que dicha

región de la cadena pesada y/o ligera constante variante todavía contribuya a los rasgos característicos pertinentes de obinutuzumab y el equivalente funcional de obinutuzumab, respectivamente (véase anteriormente para los detalles), en particular al rasgo característico de glucomanipularse como se define en el presente documento y contribuir a un nivel significativamente mayor de actividad ADCC como se define en el presente documento, respectivamente.

Lo más preferentemente, el anticuerpo que se va a usar de acuerdo con la invención es el propio obinutuzumab (también conocido como Gazyva™/Gazyvaro™ y GA101; WHO Drug Information 27(1), 2013, 90, Recommended INN: List 69). Como se menciona, obinutuzumab es bien conocido en la técnica y se describe, por ejemplo, en los documentos EP-B1 2380910 y WO 2005/044859. Obinutuzumab tiene la siguiente estructura:

Cadena pesada

```
QVQLVQSGAE VKKPGSSVKY SCKASGYAFS YSWINWVRQA PGQGLEWMGR 50
IFPGDGDIDY NGKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARNV 100
FDGYWLVYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD 150
YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPVAVLQSSG LYSLSSTVTV PSSSLGTQTY 200
ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHCTCP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK 250
DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS 300
TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV 350
YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPEVL 400
DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK 449
```

Cadena ligera

```
DIIVMTQTPLS LPVTPGEPAS ISCRSSKSLI HSNIGITYLYW YLQKPGQSPQ 50'
LLIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCAQNLELP 100'
YTFGGGTKEV IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK 150'
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE 200'
VTHQGLSSPV TKSFNRGEC 219'
```

Localización de puentes disulfuro

22-96 22"-96" 23'-93' 23"-93" 139'-199' 139"-199" 146-202 146"-202"
219'-222 219"-222" 228-228" 231-231" 263-323 263"-323" 369-427 369"-427"

Sitio de glucosilación

H CH2 N84.4

299, 299" (enriquecido en oligosacáridos no fucosilados bisectados)

El anticuerpo rituximab (denominación del producto médico: MabThera®; también conocido como Rituxan®) también es conocido en la técnica. Se describe, por ejemplo, en el documento EP-B1 1005870 (por ejemplo, figuras 4 y 5). La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de rituximab es la representada en SEQ ID NO. 9. La secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de rituximab se representa en SEQ ID NO. 10.

El experto en la técnica puede evaluar fácilmente si un paciente responde ventajosamente al tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP), en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP). En particular, el resultado clínico o los criterios de valoración clínicos del tratamiento se pueden evaluar a este respecto. Los resultados clínicos/criterios de valoración clínicos que se pueden evaluar a este respecto están disponibles para el experto en la técnica y se describen, por ejemplo, en Goede (*loc. cit.*), Owen (Expert Opin. Biol. Ther. 12(3), 2012, 343-51) e Illidge (Expert Opin. Biol. Ther. 12(5), 2012, 543-5) y en los ejemplos adjuntos.

Los ejemplos preferentes de un resultado clínico que se va a evaluar de acuerdo con la invención son supervivencia

sin progresión (SSP), supervivencia global (SG) y/o supervivencia sin sucesos (SSS). La superioridad de obinutuzumab sobre rituximab también se puede determinar en base a uno o más criterios de valoración clínicos. En principio, se prevé que el término resultado clínico se refiera a un momento durante el tratamiento y se prevé que el término criterio de valoración clínico se refiera al momento en (o después de) el final del tratamiento. El criterio de valoración clínico puede ser un criterio de valoración clínico primario. Los resultados clínicos y criterios de valoración clínicos particulares, sin embargo no limitantes, se describen en los ejemplos adjuntos.

El experto en la técnica puede decidir fácilmente si un resultado clínico dado se mejora de acuerdo con la invención, es decir, se mejora en comparación con un tratamiento con rituximab. Por ejemplo, "mejorado" en este contexto quiere decir que el resultado clínico (resultante del tratamiento con obinutuzumab/un equivalente funcional de obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP)) es al menos un 3 % mayor, al menos un 5 % mayor, al menos un 7 % mayor, al menos un 10 % mayor, al menos un 15 % mayor, al menos un 20 % mayor, al menos un 25 % mayor, al menos un 30 % mayor, al menos un 40 % mayor, al menos un 50 % mayor, al menos un 75 % mayor, al menos un 100 % mayor o al menos un 120 % mayor, en comparación con el resultado clínico resultante de un tratamiento comparable con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP).

El momento en el que se evalúa el resultado clínico/criterio de valoración clínico se puede determinar fácilmente por el experto en la técnica. En principio, se determina en un momento en el que la diferencia en el resultado clínico/criterio de valoración clínico entre los dos tratamientos (tratamiento con obinutuzumab frente a tratamiento con rituximab) se hace (significativamente) evidente. Este tiempo puede ser, por ejemplo, de al menos 1 mes, al menos 2 meses, al menos 3 meses, al menos 6 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, al menos 30 meses, al menos 36 meses, al menos 42 meses, o al menos 48 meses, después del inicio del tratamiento.

Preferentemente, el paciente (LDLBG) que se va a tratar de acuerdo con la invención es un paciente humano/ser humano.

Lo más preferentemente, el paciente (LDLBG) que se va a tratar de acuerdo con la invención es un paciente humano con LDLBG 1L. Esto quiere decir que el paciente con LDLBG es un paciente con LDLBG sin tratamiento previo.

Sin embargo, en principio, también se pueden tratar otros pacientes de acuerdo con la invención, por ejemplo, un paciente no humano, por ejemplo, una mascota (por ejemplo, perro, gato, conejo, rata o ratón), ganado (por ejemplo, vaca, cerdo, oveja), un caballo, un poni o un pájaro (por ejemplo, pollo, pavo, loro). También se pueden tratar otros animales de sangre caliente de acuerdo con la invención.

Como se menciona, se prevé en particular en el contexto de la invención que el paciente definido en el presente documento responda a un tratamiento con obinutuzumab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP) alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab (en particular en combinación con una quimioterapia, más particular en combinación con una quimioterapia CHOP).

El anticuerpo que se va a usar en el contexto de la invención (es decir, obinutuzumab o un equivalente funcional del mismo) se puede administrar en combinación con otros agentes. Por ejemplo, se pueden coadministrar uno o más de otros agentes citotóxicos o quimioterapéuticos adicionales, o radiación ionizante que potencie los efectos de dicho(s) agente(s); véanse, por ejemplo, los documentos EP-B1 2380910, WO 2005/044859, WO 2015/067586 y WO 2016/207312 para los respectivos ejemplos.

Los términos "administrado en combinación con" o "coadministración", "coadministrar", "politerapia" o "tratamiento combinado" se refieren a la administración del anticuerpo como se describe en el presente documento, y el/los otro(s) agente(s) como se describe en el presente documento, por ejemplo, como formulaciones/aplicaciones separadas (o como una sola formulación/aplicación). La coadministración puede ser simultánea o secuencial en cualquier orden, en la que preferentemente existe un período de tiempo durante el que ambos (o todos los) agentes activos ejercen simultáneamente sus actividades biológicas. Dicho anticuerpo y dicho(s) otro(s) agente(s) se coadministran de forma simultánea o bien secuencial (por ejemplo, por vía intravenosa (i.v.)), por ejemplo a través de una infusión continua. Cuando ambos agentes terapéuticos se coadministran secuencialmente, la dosis se administra el mismo día en dos administraciones separadas, bien o uno de los agentes se puede administrar el día 1 y el segundo se puede coadministrar del día 2 al día 7, preferentemente del día 2 al 4. Por tanto, en un aspecto, el término "secuencialmente" quiere decir dentro de (aproximadamente) 7 días después de la dosis del primer componente, preferentemente dentro de (aproximadamente) 4 días después de la dosis del primer componente; y el término "simultáneamente" quiere decir al mismo tiempo. El término "coadministración" con respecto a las dosis de mantenimiento del anticuerpo y/o de otro(s) agente(s) quiere decir que las dosis de mantenimiento se pueden coadministrar simultáneamente, si el ciclo de tratamiento es apropiado para ambos fármacos, por ejemplo, cada semana o bien el otro agente se administra, por ejemplo, cada primer a tercer día y dicho anticuerpo se administra

cada semana. O bien las dosis de mantenimiento se coadministran secuencialmente, en uno o bien varios días.

Además del anticuerpo, opcionalmente en combinación con otro(s) agente(s), también se pueden administrar (un) agente(s) quimioterápico(s) o tratamientos dirigidos.

Dichos agentes quimioterápicos adicionales que se pueden coadministrar incluyen, pero no se limitan a, agentes antineoplásicos que incluyen agentes alquilantes que incluyen: mostazas nitrogenadas, tales como mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán y clorambucilo; nitrosoureas, tales como carmustina (BCNU), lomustina (CCNU) y semustina (metil-CCNU); Temodal(TM) (temozolamida), etileniminas/metilmelamina tales como trietilenmelamina (TEM), trietilen, tiofosforamida (tiotepa), hexametilmelamina (HMM, altretamina); sulfonatos de alquilo tales como busulfano; triacinas tales como dacarbazina (DTIC); antimetabolitos que incluyen análogos de ácido fólico tales como metotrexato y trimetrexato, análogos de pirimidina tales como 5-fluorouracilo (5FU), fluorodesoxiuridina, gemcitabina, arabinósido de citosina (AraC, citarabina), 5-azacitidina, 2,2'-difluorodesoxiciditidina, análogos de purina tales como 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, T-desoxicoformicina (pentostatina), eritrohidroxinoniladenina (EHNA), fosfato de fludarabina y 2-clorodesoxiadenosina (cladribina, 2-CdA); productos naturales que incluyen fármacos antimitóticos tales como paclitaxel, alcaloides de la vinca que incluyen vinblastina (VLB), vincristina y vinorelbina, taxotere, estramustina y fosfato de estramustina; pipodofilotoxinas tales como etopósido y tenipósido; antibióticos tales como actinomicina D, daunomicina (rubidomicina), doxorubicina, mitoxantrona, idarrubicina, bleomicinas, plicamicina (mitramicina), mitomicina C y actinomicina; enzimas tales como L-asparaginasa; modificadores de la respuesta biológica tales como interferón α , IL-2, G-CSF y GM-CSF; agentes diversos que incluyen complejos de coordinación de platino tales como oxaliplatino, cisplatino y carboplatino, antracenodionas tales como mitoxantrona, urea sustituida tal como hidroxiaurea, derivados de metilhidracina que incluyen N-metilhidracina (MIH) y procarbacin, supresores corticosuprarrenales tales como mitotano (o, p-DDD) y aminoglutetimida; hormonas y antagonistas que incluyen antagonistas de corticoesteroides tales como prednisona y equivalentes, dexametasona y aminoglutetimida; Gemzar(TM) (gemcitabina), progestina tal como caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona y acetato de megestrol; estrógenos tales como equivalentes de dietilestilbestrol y etinilestradiol; antiestrógenos tales como tamoxifeno; andrógenos que incluyen propionato de testosterona y fluoximesterona/equivalentes; antiandrógenos tales como flutamida, análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas y leuporelina; y antiandrógenos no esteroideos tales como flutamida. Los tratamientos de selección del mecanismo epigenético que incluyen, pero sin limitarse a, inhibidores de histona desacetilasa, agentes desmetilantes (por ejemplo, Vidaza) y tratamientos de liberación de represión transcripcional (ATRA) también se pueden combinar con las proteínas de unión a antígeno. En un aspecto, el agente quimioterápico se selecciona del grupo que consiste en taxanos (como, por ejemplo, paclitaxel (Taxol), docetaxel (Taxotere), paclitaxel modificado (por ejemplo, Abraxane y Opaxio), doxorubicina, sunitinib (Sutent), sorafenib (Nexavar) y otros inhibidores de multikinasa, oxaliplatino, cisplatino y carboplatino, etopósido, gemcitabina y vinblastina. En un aspecto, el agente quimioterápico se selecciona del grupo que consiste en taxanos (como, por ejemplo, taxol (paclitaxel), docetaxel (Taxotere), paclitaxel modificado (por ejemplo, Abraxane y Opaxio). En un aspecto, el agente quimioterápico adicional se selecciona de 5-fluorouracilo (5-FU), leucovorina, irinotecán u oxaliplatino. En un modo de realización, el agente quimioterápico es 5-fluorouracilo, leucovorina e irinotecán (FOLFIRI). En un modo de realización, el agente quimioterápico es 5-fluorouracilo y oxaliplatino (FOLFOX).

En un modo de realización preferente, el anticuerpo definido en el presente documento (es decir, obinutuzumab y sus equivalentes funcionales) se puede administrar en combinación con una quimioterapia, por ejemplo, con una quimioterapia CHOP (más preferente) o con variantes de una quimioterapia CHOP, como una quimioterapia CHOEP, una quimioterapia CHOP-14 o quimioterapia ACVBP (véanse, por ejemplo, los ejemplos adjuntos, *infra*, y también los documentos EP-B12380910, WO 2005/044859 y Scott, 2014 y 2015, *loc. cit.*). Los agentes quimioterápicos adicionales que se van a coadministrar se seleccionan del grupo que consiste en ciclofosfamida, hidroxidaunorubicina, oncovin, prednisona o prednisolona y, opcionalmente, etopósido.

El anticuerpo que se va a usar en el contexto de la invención puede estar comprendido en una composición, en particular en una composición farmacéutica. La composición farmacéutica puede comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas y los vehículos farmacéuticamente aceptables son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en los documentos EP-B1 2380910, WO 2005/044859, WO 2015/067586 y WO 2016/207312.

En consecuencia, en otro aspecto, se prevé que se emplee una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que contiene un anticuerpo, o una porción de unión a antígeno del mismo, como se define en el presente documento, opcionalmente formulada conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción/reabsorción, y similares, adecuados que sean fisiológicamente compatibles. Preferentemente, la composición farmacéutica y el vehículo, respectivamente, son adecuados para inyección o

infusión.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es conocido en la técnica. Además de agua, el vehículo puede ser, por ejemplo, una solución salina tamponada isotónica.

Los vehículos, excipientes o estabilizantes aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenos tales como metil o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; glúcidos tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).

El anticuerpo para su uso de acuerdo con la presente invención se puede administrar por una variedad de procedimientos conocidos en la técnica. Como se apreciará por el experto en la técnica, la vía y/o modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que se pueden usar en una forma hidratada adecuada, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables por procedimientos convencionales conocidos para los expertos en la técnica.

Las formulaciones de anticuerpos ejemplares que se pueden emplear, apropiadamente adaptadas, se describen en el documento WO98/56418. Esta publicación describe una formulación multidosis líquida que comprende 40 mg/ml de anticuerpo, acetato 25 mM, trehalosa 150 mM, alcohol bencílico al 0,9 %, polisorbato 20 al 0,02 % a pH 5,0 que tiene un tiempo de vida útil mínimo de dos años de almacenamiento a 2-8 °C. Otra formulación de anticuerpo comprende 10 mg/ml de anticuerpo en 9,0 mg/ml de cloruro de sodio, 7,35 mg/ml de citrato de sodio dihidrato, 0,7 mg/ml de polisorbato 80 y agua estéril para inyectables, pH 6,5.

Se pueden variar los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin que sean tóxicos para el paciente (cantidad eficaz). El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos, incluyendo la actividad de las composiciones particulares, o el éster, sal o amida de las mismas, la ruta de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto particular que se está empleando, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, estado, salud general y antecedentes médicos anteriores del paciente que se está tratando, y (otros) factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

El término "un procedimiento de tratamiento" o su equivalente, cuando se aplica, por ejemplo, a LDLBG y al paciente definido en el presente documento, respectivamente, se refiere a un procedimiento o modo de acción que se diseña, por ejemplo, para reducir o eliminar el número de células tumorales de LDLBG en un paciente, o para aliviar los síntomas de un tumor LDLBG. Sin embargo, "un procedimiento de tratamiento" de LDLBG no quiere decir necesariamente que las células tumorales de LDLBG de hecho se eliminen, que el número de células de hecho se reduzca, o que los síntomas de un tumor de LDLBG de hecho se alivien. A menudo, se realizará un procedimiento de tratamiento de LDLBG incluso con una baja verosimilitud de éxito, pero que, dados los antecedentes médicos y la expectativa de supervivencia estimada de un paciente, se considera no obstante que induce un modo de acción beneficioso global, en particular en comparación con un tratamiento con rituximab.

Es evidente que el anticuerpo se administra (que se va a administrar) al paciente en una "cantidad terapéuticamente eficaz" (o simplemente "cantidad eficaz") que es la cantidad del respectivo compuesto o combinación que provocará la respuesta biológica o médica, por ejemplo, de un tejido, sistema, animal o ser humano que se busca por el investigador, veterinario, médico u otro facultativo.

La cantidad de coadministración y el momento de coadministración dependerán del tipo (especie, sexo, edad, peso, etc.) y estado del paciente que se está tratando y la gravedad de la enfermedad o afección que se está tratando. El anticuerpo, y opcionalmente otro agente, se (co)administran adecuadamente al paciente en un momento o durante una serie de tratamientos, por ejemplo, el mismo día o al día siguiente.

Dependiendo del tipo y gravedad de la enfermedad, aproximadamente de 0,1 mg/kg a 50 mg/kg (por ejemplo, 0,1-

20 mg/kg) del anticuerpo definido en el presente documento es una dosificación candidata inicial para la coadministración al paciente.

Sin embargo, un ejemplo no limitante particular de un esquema de administración (incluyendo vías de administración y dosificaciones) para obinutuzumab/un equivalente funcional de obinutuzumab (más particular G-CHOP) se describe y se proporciona por los ejemplos adjuntos (en particular el ejemplo 1 y el ejemplo 2 que describe el diseño de estudio y los tratamientos aplicados en el contexto del estudio GOYA en detalle). El experto en la técnica, si es necesario, puede adaptar fácilmente este ejemplo de un esquema de administración de G a cualquier otro esquema de administración de G que pueda ser apropiado.

El anticuerpo y la composición farmacéutica, respectivamente, que se van a emplear se pueden proporcionar junto con un manual de instrucciones o folleto de instrucciones. El manual/folleto de instrucciones puede comprender una guía para el experto/médico especialista sobre cómo tratar el DLBLG y el paciente definido en el presente documento. Por ejemplo, el manual/folleto de instrucciones puede comprender una guía en cuanto al modo de administración/régimen de administración descrito en el presente documento (por ejemplo, vía de administración, pauta posológica, hora de administración, frecuencia de administración). En particular, el manual/folleto de instrucciones puede comprender información en cuanto al paciente que se va a tratar, es decir, el paciente definido en el presente documento. En principio, lo que se ha dicho en el presente documento en otra parte con respecto a obinutuzumab, el paciente que se va a tratar, el modo de administración/pauta de administración (incluyendo dosificaciones, etc.) etc. se puede comprender en el manual/folleto de instrucciones.

Una muestra preferente para emplearse en un procedimiento para identificar o diagnosticar un paciente con DLBL de acuerdo con la invención se deriva del tejido tumoral del paciente (por ejemplo, como una biopsia). Por ejemplo, se puede emplear tejido tumoral fijado con formol o, preferentemente, incluido en parafina (por ejemplo, cortes de tejido tumoral en un portaobjetos). Sin embargo, también se prevé que se empleen otras muestras, por ejemplo, cortes/biopsias de otros tejidos, muestras de sangre, muestras de suero u otras muestras de líquidos corporales, y similares.

La invención se describirá ahora por referencia a las siguientes figuras y ejemplos.

Las figuras muestran:

Figura 1

Disposición de pacientes en GOYA.

*Interrumpido se refiere a pacientes que interrumpieron el tratamiento de estudio (anticuerpos).

*La mediana del tiempo de observación fue de 29 meses en cada grupo; el tratamiento completado se refiere a los pacientes que completaron el tratamiento (con anticuerpos) del estudio.

Se estratificaron pacientes en la aleatorización por puntuación IPI (riesgo bajo/bajo-intermedio, alto-intermedio y alto), número previsto de ciclos de CHOP (8 frente a 6) y región geográfica (Europa occidental, Europa oriental, Suramérica y Centroamérica, Norteamérica, Asia y otros).

G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

Figura 2

Estimaciones de Kaplan-Meier de SSP y SG en GOYA.

(A) SSP evaluada por el investigador (criterio de valoración principal) por tratamiento, población por intención de tratar, (B) SG por tratamiento, población por intención de tratar (C) SSP evaluada por el investigador por subtipo de célula de origen (independientemente del tratamiento de estudio) en pacientes con datos de células de origen.

LBA, similar a linfocitos B activados; IC, intervalo de confianza; BCG, similar a linfocitos B del centro germinativo; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona; CRI: cociente de riesgos instantáneos; SG: supervivencia global; SSP, supervivencia sin progresión; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona.

Figura 3

Cocientes de riesgos instantáneos no estratificados para SSP evaluada por el investigador en subgrupos de pacientes GOYA.

(A) factores de estratificación de aleatorización y (B) características de referencia.

LBA, similar a linfocitos B activados; IC, intervalo de confianza; LDLBG, linfoma difuso de linfocitos B grandes;

5 ECOG PS, valoración funcional del Eastern Cooperative Oncology Group; BCG, similar a linfocitos B del centro germinativo; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona; IPI, índice pronóstico internacional; KM, Kaplan-Meier; SSP, supervivencia sin progresión; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona.

10 *Casos donde se marcó "sí" en el CRDe para afectación extraganglionar; 14 pacientes con sitios extraganglionares 0 se marcaron por error.

Figura 4

15 **Beneficio de Gazyva en pacientes con BCL2 translocada en GOYA**

Figura 5

20 **Beneficio de Gazyva en pacientes con sobreexpresión de proteína BCL2 en GOYA**

Figura 6

Beneficio de Gazyva en pacientes con BCL2 translocada con sobreexpresión de proteína BCL2 en GOYA

25 Evaluación del efecto del tratamiento en cuadrantes definidos por IHQ (pos/neg) BCL2 y FISH (pos/neg) BCL2 en GOYA. Se ha demostrado que la superioridad de Gazyva es específica para pacientes con IHQ+/FISH+ BCL2.

Figura 7

30 **Beneficio de Gazyva en subgrupos de BCG definidos por diversos valores de corte de la puntuación de factor pronóstico lineal en GOYA**

A: Gráfico de BOSQUE, valor de corte 25 %-36 % (%)

35 B: Gráfico de BOSQUE, valor de corte 25 %-50 % (%)

C: Beneficio de Gazyva en el subgrupo de BCG fuerte para el criterio de valoración principal (INV-SSP) en el valor de corte de LPS <749.

40 ☐ CRI* (IC 95 %) en pacientes de GOYA con BCG fuerte

— SSP: 0,33 [0,18 – 0,83], valor de $p=0,0007$

45 ☐ Los pacientes con BCG fuerte representan un 25 % ($n=233/933$) de todos los pacientes con LDLBG en GOYA con LPS < 749.

☐ Los pacientes con BCG fuerte representan un 43 % ($n=233/540$) de los pacientes con BCG en GOYA

Figura 8

50 **Beneficio de Gazyva en pacientes con BCL con BCL2 translocada y con sobreexpresión de proteína BCL2 en GOYA.**

Figura 9

55 **Beneficio de Gazyva en pacientes con CD58 mutada y/o pacientes con baja expresión génica de CD58 en GOYA.**

Figura 10

60 **Optimización de simulación multivariante del valor de corte de LPS para el beneficio de G-CHOP sobre R-CHOP en la supervivencia sin progresión en pacientes evaluables con biomarcadores con análisis de CDO (N=xx).**

65 Optimización del valor de corte de LPS para el efecto del tratamiento con BCG fuerte en los datos originales de GOYA. *CRI multivariante ajustado para tratamiento, índice de pronóstico internacional, número de ciclos de

quimioterapia (6 u 8) y región geográfica. Línea azul, estimación puntual del CRI, línea amarilla, IC 95 %; IC, intervalo de confianza; CDO, célula de origen; CRI: cociente de riesgos instantáneos; LPS, puntuación de factor pronóstico lineal.

5 Figura 11

Caracterización molecular de pacientes con BCG fuerte[#] en GOYA.

Los pacientes con BCG fuerte tienen una prevalencia significativamente mayor de rasgos característicos de mutación somática de LF.

(A) Prevalencia de rasgos característicos de mutación somática de LF* (cualquier tipo de mutación).

(B) Prevalencia de translocaciones de BCL2[†]

#Otros biomarcadores evaluados para caracterizar BCG fuerte del débil, donde no se identificaron diferencias significativas en la tasa de prevalencia, fueron: por expresión génica, firmas del gen 1/2 estromal, firmas del gen 1/2 de respuesta inmunitaria, CD20 y PTEN; por expresión de proteínas, doble expresión de BCL2, MYC y BCL2/MYC; y por translocaciones de genes, translocaciones de MYC y mutación doble de BCL2/MYC. LBA, linfocitos B activados; DLBCL, linfoma difuso de linfocitos B grandes; TDF, tasa de descubrimientos falsos; FISH, hibridación *in situ* con fluorescencia; LF, linfoma folicular; BCG, linfocitos B del centro germinativo; NGS, secuenciación de segunda generación.

Figura 12

25

Distribución del valor de corte de LPS óptimo en muestras de muestreo con reposición

❑ Simulaciones multivariantes de muestreo con reposición para someter a prueba además la solidez y la generalización de una LPS óptima identificada usando la "regla CRI mín."

30

❑ El pico extremo en las muestras de muestreo con reposición está en LPS = 725

❑ La distribución de LPS con su pico único respalda la solidez de la señal del efecto del tratamiento

35

❑ El valor de corte de LPS óptimo sugerido para un nuevo estudio de confirmación potencial es de LPS ≤ 725

– Históricamente, todos los análisis de biomarcadores de GOYA han definido BCG fuerte como < 749 (25 % de los pacientes en GOYA), incluyendo los análisis de biomarcadores presentados en este OBRF

40

– n = 4 pacientes con 725 < LPS < 749, todos G-CHOP (1 suceso)

Figura 13

45

Estimaciones de Kaplan-Meier del tiempo hasta el siguiente tratamiento antilinfoma (criterio de valoración secundario) en la población con intención de tratar.

IC, intervalo de confianza; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; CRI: cociente de riesgos instantáneos; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

50

Figura 14

Estimaciones de Kaplan-Meier de SSP evaluada por el investigador por grupo de tratamiento en pacientes con datos de CDO, subagrupados por subtipo CDO.

55

(A) BGC; (B) LBA; (C) no clasificado,

LBA, similar a linfocitos B activados; IC, intervalo de confianza; CDO, célula de origen; BCG, similar a los linfocitos B del centro germinativo; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; CRI: cociente de riesgos instantáneos; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

60

La presente invención también se refiere a las siguientes tablas.

Tabla 1. Características de referencia de paciente y enfermedad (población por intención de tratar)

Característica	G-CHOP (N = 706)*	R-CHOP (N = 712)*
Mediana de edad, años (intervalo)	62,0 (18–86)	62,0 (16–83)
Hombres, n.º (%)	369 (52,3)	383 (53,8)
Región geográfica, n.º (%)		
Asia	260 (36,8)	258 (36,2)
Europa occidental	211 (29,9)	215 (30,2)
Norteamérica	109 (15,4)	107 (15,0)
Europa oriental	97 (13,7)	99 (13,9)
Otra	29 (4,1)	33 (4,6)
ECOG PS, n.º (%)	n = 705	n = 712
0–1	618 (87,7)	613 (86,1)
2–3	87 (12,3)	99 (13,9)
Estadio Ann Arbor, n.º (%)	n = 706	n = 711
I y II	170 (24,1)	171 (24,0)
III y IV	536 (75,9)	540 (75,8)
IPI grupo de riesgo, n.º (%)		
Bajo/bajo-intermedio	376 (53,3)	409 (57,4)
Alto-intermedio	221 (31,3)	192 (27,0)
Alto	109 (15,4)	111 (15,6)
Ciclos de quimioterapia previstos, n.º (%)		
6	523 (74,1)	526 (73,9)
8	183 (25,9)	186 (26,1)
LDH elevada, n.º (%)	n = 705	n = 708
	415 (58,9)	401 (56,6)
Afectación extraganglionar, n.º (%) [†]	484 (68,6)	468 (65,7)
Neoplasia maligna con gran masa tumoral (≥7,5 cm), n.º (%)	261/703 (37,1)	262/710 (36,9)
Célula de origen	n = 471 [‡]	n = 462 [‡]
BCG	271 (57,5)	269 (58,2)
LBA	125 (26,5)	118 (25,5)
No clasificado	75 (15,9)	75 (16,2)

LBA, similar a linfocitos B activados (subgrupo); ECOG PS, valoración funcional del Eastern Cooperative Oncology Group; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; BCG, similar a linfocitos B del centro germinativo (subgrupo); IPI, índice pronóstico internacional; LDH, lactato deshidrogenasa; PET, tomografía por emisión de positrones; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

*n = 706 para G-CHOP y n = 712 para R-CHOP para todos los parámetros a menos que se especifique de otro modo.

[†]Casos donde se marcó "sí" en el CRDe para afectación extraganglionar; 14 pacientes con sitios extraganglionares 0 se marcaron por error.

[‡] No constó la clasificación del subtipo CDO para 485 pacientes (G-CHOP, 235; R-CHOP, 250); incluye muestras de China que no se pudieron analizar debido a la falta de una licencia de exportación; se prevé el análisis de estas muestras en un futuro próximo.

Tabla 2. Sumario de criterios de valoración de eficacia (población por intención de tratar)

Criterio de valoración	Evaluación del investigador	
	G-CHOP N = 706	R-CHOP N = 712
Mediana del tiempo de observación, meses (intervalo)	29,0 (0,1-56,6)	28,9 (0,1-56,2)
SSP evaluada por el investigador (criterio de valoración principal)	N = 706	N = 712
Pacientes con suceso, n.º (%)	201 (28,5)	215 (30,2)
SSP 3 años, %	69,6	66,9
CRI estratificado (IC 95 %) – valor de <i>p</i> (rango log)*	0,92 (0,76-1,11), <i>p</i> = 0,3868	
SSP evaluada por IRC	N = 706	N = 712
Pacientes con suceso, n.º (%)	171 (24,2)	186 (26,1)
SSP 3 años, %	72,5	70,6
CRI estratificado (IC 95 %), valor de <i>p</i> (rango log)*	0,89 (0,72 a 1,10), <i>p</i> = 0,2736	
SG	N = 706	N = 712
Pacientes con suceso, n.º (%)	126 (17,8)	126 (17,7)
SG 3 años, % (IC 95 %)	81,2 (77,9 a 84,1)	81,4 (78,1 a 84,3)
CRI estratificado (IC 95 %)*	1,00 (0,78 a 1,28)	
SSE en pacientes con RC evaluada por el investigador	n = 397	n = 369
Pacientes con suceso, n.º (%)	77 (19,4)	64 (17,3)
CRI estratificado (IC 95 %)*	1,27 (0,91 a 1,77)	
SSS evaluada por el investigador	N = 706	N = 712
Sucesos, n.º (%)	236 (33,4)	250 (35,1)
CRI estratificado (IC 95 %)*	0,92 (0,77 a 1,11)	
Momento de inicio de nuevo tratamiento antilinfoma	N = 706	N = 712
Pacientes con suceso, n.º (%)	213 (30,2)	230 (32,3)
Proporción sin sucesos a 3 años, % (IC 95 %)	69,9 (66,2 a 73,2)	66,5 (62,7 a 70,1)
CRI estratificado (IC 95 %)*	0,92 (0,76 a 1,11)	
Respuesta evaluada por el investigador (con PET) al final del tratamiento [†]	n = 669	n = 665
TRG		
Proporción, n.º (%)	518 (77,4)	518 (77,9)
Diferencia en porcentaje (IC 95 %)	-0,47 (-5,01 a 4,08)	
RC		
Proporción, n.º (%)	379 (56,7)	396 (59,5)
Diferencia (IC 95 %)	-2,90 (-8,27 a 2,48)	
Respuesta evaluada por el investigador (sin PET) al final del tratamiento [†]	N = 706	N = 712
TRG		
Proporción, n.º (%)	577 (81,7)	572 (80,3)
Diferencia en porcentaje (IC 95 %)	1,39 (-2,76 a 5,54)	
RC		
Proporción, n.º (%)	248 (35,1)	241 (33,8)
Diferencia (IC 95 %)	1,28 (-3,74 a 6,30)	

IC, intervalo de confianza; RC, respuesta completa; SSE, supervivencia sin enfermedad; SSS, supervivencia sin sucesos;

G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; CRI: cociente de riesgos instantáneos; IRC, Comité de Revisión Independiente; TRG, tasa de respuesta global; SG: supervivencia global; PET, tomografía por emisión de positrones; SSP, supervivencia sin progresión; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

*Los factores de estratificación fueron la puntuación del Índice de pronóstico internacional y el número previsto de ciclos de CHOP (6 u 8).

[†]De acuerdo con criterios de respuesta revisados.¹³

Tabla 3. Sumario de AA, incluyendo AA de grado 3-5 y graves informados por $\geq 5\%$ de los pacientes en cualquier grupo (en el nivel de término preferente; población de seguridad)

	G-CHOP (N = 704), n.º (%)		R-CHOP (N = 703), n.º (%)	
Número de muertes por cualquier motivo	126 (17,9)		122 (17,4)	
Número de pacientes retirados del estudio debido a un AA	4 (0,6)		3 (0,4)	
Pacientes con al menos un AA	683 (97,0 %)		657 (93,5)	
AA grado 3-5	519 (73,7)		455 (64,7)	
AA con desenlace mortal*	41 (5,8)		30 (4,3)	
AA grave	300 (42,6)		264 (37,6)	
AA relacionados con el tratamiento	639 (90,8)		596 (84,8)	
AA que dan lugar a la retirada de cualquier tratamiento	84 (11,9)		60 (8,5)	
AA que dan lugar a la reducción de dosis para cualquier tratamiento	145 (20,6)		138 (19,6)	
	Grado 3-5 AA	Grave AA	Grado 3-5 AA	Grave AA
Trastornos sanguíneos y del sistema linfático				
Número total de pacientes con al menos un AA	415 (58,9)	135 (19,2)	348 (49,5)	113 (16,1)
Neutrocitopenia	325 (46,2)	52 (7,4)	268 (38,1)	40 (5,7)
Neutrocitopenia febril	123 (17,5)	81 (11,5)	107 (15,2)	72 (10,2)
Leucocitopenia	96 (13,6)	10 (1,4)	71 (10,1)	5 (0,7)
Anemia	51 (7,2)	9 (1,3)	53 (7,5)	6 (0,9)
Infecciones e infestaciones				
Número total de pacientes con al menos un AA	135 (19,2)	121 (17,2)	109 (15,5)	94 (13,4)
Neumonía	40 (5,7)	40 (5,7)	35 (5,0)	32 (4,6)

AA, acontecimiento adverso; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

*Los AA mortales que se informaron en más de un paciente en cualquier grupo, enumerados como términos preferentes, fueron: choque séptico (6 [0,9 %] pacientes), neumonía (5 [0,7 %]), muerte [causa desconocida; 3 [0,4 %]], embolia pulmonar (2 [0,3 %]) y accidente cerebrovascular (2 [0,3 %]) en el grupo G-CHOP y neumonía (6 [0,9 %]), sepsis (3 [0,4 %]), accidente cerebrovascular (2 [0,3 %]) y muerte (causa desconocida; 2 [0,3 %]) en el grupo R-CHOP.

Tabla 4: Efecto de G-CHOP y R-CHOP en los resultados clínicos en BCG fuerte y todos los demás pacientes

CRI de análisis multivariante (G frente a R)* [IC 95 %]; valor de p	Pacientes con BCG fuerte (n=233) R-CHOP: n=121 G-CHOP: n=112	Todos los demás pacientes (n=700) R-CHOP: n=341 G-CHOP: n=359
Tasa a 3 años (%)		
SSP	0,33 [0,18-0,63]; $p=0,0007$ R: 66 %; G: 88 %	0,99 [0,76-1,28]; $p=0,9117$ R: 66 %; G: 66 %
SSS	0,47 [0,28-0,78]; $p=0,00344$ R: 59 %; G: 80 %	1,01 [0,79-1,29]; $p=0,9513$ R: 63 %; G: 62 %
SG	0,41 [0,20-0,87]; $p=0,019$ R: 79 %; G: 92 %	1,10 [0,79-1,53]; $p=0,582$ R: 81 %; G: 78 %
*Ajustado por grupo de tratamiento, índice pronóstico internacional, número de ciclos de quimioterapia (6 u 8) y región geográfica		
IC, intervalo de confianza; SSS: supervivencia sin sucesos; BCG, linfocitos B del centro germinativo; CRI: cociente de riesgos instantáneos; SG: supervivencia global; SSP, supervivencia sin progresión (evaluada por el investigador)		

Tabla 5: Estudio Exposición a fármaco

	G-CHOP (N = 704), n.º (%)	R-CHOP (N = 703), n.º (%)
Número de dosis de obinutuzumab o rituximab recibidas, mediana (intervalo)	10 (1-10)	8 (1-8)
Pacientes con modificaciones en cualquier dosis de obinutuzumab o rituximab*	222 (31,5)	210 (29,9 %)

Pacientes con modificaciones en dosis de obinutuzumab o rituximab en ciclo 1*	192/702 (27,4)	155/703 (22,0)
Día 1	39/651 (6,0)	0
Día 8	41/624 (6,6)	0
Día 15		
Pacientes con retrasos en las dosis de obinutuzumab o rituximab > 7 días	92 (13,1)	64 (9,1)
Pacientes con ≥ 90 % de intensidad de dosis prevista de obinutuzumab o rituximab	671 (95,3)	697 (99,1)
Pacientes con > 90 % de intensidad de dosis prevista de ciclofosfamida	642 (91,3)	647 (92,0)
doxorrubicina	631 (89,8)	639 (90,9)
prednisona	662 (94,0)	643 (91,5)
vincristina	642 (91,3)	625 (88,9)
Duración de la exposición a obinutuzumab o rituximab, semanas, mediana (intervalo)	25,3 (1-32)	25,3 (0-32)
Dosis acumulativa de obinutuzumab o rituximab en mg, mediana (intervalo)	10.000 (998-10.065)	5.133,5 (515-8.084)
G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisona; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisona.		

*Incluyendo interrupciones de infusiones y ralentización de tasas de infusión.

Tabla 6. Número (y %) de pacientes que informaron AA de cualquier grado con una tasa de incidencia de al menos un 10 % (en el nivel de término preferente) en cualquier grupo de tratamiento, enumerado por categoría de órgano, aparato o sistema y término preferente (población de seguridad)

	G-CHOP (N = 704), n.º (%)	R-CHOP (N = 703), n.º (%)
Trastornos sanguíneos y del sistema linfático		
Número total de pacientes con al menos un AA	451 (64,1)	389 (55,3)
Neutrocitopenia	340 (48,3)	286 (40,7)
Neutrocitopenia febril	127 (18,0)	108 (15,4)
Leucocitopenia	115 (16,3)	87 (12,4)
Anemia	95 (13,5)	99 (14,1)
Trastornos gastrointestinales		
Número total de pacientes con al menos un AA	428 (60,8)	410 (58,3)
Náuseas	207 (29,4)	199 (28,3)
Estreñimiento	165 (23,4)	172 (24,5)
Diarrea	112 (15,9)	92 (13,1)
Vómitos	103 (14,6)	74 (10,5)
Trastornos generales y afecciones en el sitio de administración		
Número total de pacientes con al menos un AA	420 (59,7)	323 (45,9)
Fatiga	137 (19,5)	123 (17,5)
Pirexia	142 (20,2)	83 (11,8)
Escalofríos	133 (18,9)	37 (5,3)
Astenia	71 (10,1)	76 (10,8)
Lesiones, intoxicaciones y complicaciones quirúrgicas		
Número total de pacientes con al menos un AA	281 (39,9)	204 (29,0)
reacción relacionada con infusión	254 (36,1)	165 (23,5)
Trastornos de metabolismo y nutrición		
Número total de pacientes con al menos un AA	202 (28,7)	170 (24,2)
Disminución del apetito	97 (13,8)	71 (10,1)
Trastornos del sistema nervioso		
Número total de pacientes con al menos un AA	336 (47,7)	299 (42,5)
Neuropatía periférica	88 (12,5)	89 (12,7)
Cefalea	75 (10,7)	57 (8,1)
Trastornos psiquiátricos		
Número total de pacientes con al menos un AA	107 (15,2)	83 (11,8)
Insomnio	76 (10,8)	58 (8,3)

Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos		
Número total de pacientes con al menos un AA	232 (33,0)	197 (28,0)
Tos	83 (11,8)	60 (8,5)
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo		
Número total de pacientes con al menos un AA	226 (32,1)	226 (32,1)
Alopecia	145 (20,6)	142 (20,2)
AA, acontecimiento adverso; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.		

Tabla 7. Sumario de AA de particular interés como términos preferentes o categorías predefinidas (población de seguridad)

Categoría	Todos los grados		Grados 3–5	
	G-CHOP (N = 704), n. ^o (%)	R-CHOP (N = 703), n. ^o (%)	G-CHOP (N = 704), n. ^o (%)	R-CHOP (N = 703), n. ^o (%)
Infecciones*	379 (53,8)	310 (44,1)	135 (19,2)	109 (15,5)
Infecciones oportunistas [†]	13 (1,8)	15 (2,1)	8 (1,1)	9 (1,3)
Neutrocitopenia [‡]	398 (56,5)	338 (48,1)	384 (54,5)	324 (46,1)
Reacciones relacionadas con infusión [§]	319 (45,3)	223 (31,7)	69 (9,8)	24 (3,4)
Reacciones relacionadas con infusión (relacionadas con anticuerpos) [§]	273 (38,8)	174 (24,8)	53 (7,5)	16 (2,3)
Síndrome de lisis tumoral	4 (0,6)	4 (0,6)	4 (0,6)	4 (0,6)
Complicaciones cardíacas [†]	75 (10,7)	53 (7,5)	33 (4,7)	20 (2,8)
Trombocitopenia [†]	55 (7,8)	18 (2,6)	31 (4,4)	10 (1,4)
Segundas neoplasias malignas**	15 (2,1)	15 (2,1)	12 (1,7)	13 (1,8)
Reactivación de la hepatitis B ^{††}	16 (2,3)	6 (0,9)	2 (0,3)	2 (0,3)
Leucoencefalopatía multifocal progresiva	1 (0,1)	0	1 (0,1)	0
Perforación gastrointestinal ^{††}	14 (2,0)	8 (1,1)	12 (1,7)	8 (1,1)
Sucesos de perforación	7 (1,0)	7 (1,0)	6 (0,9)	7 (1,0)
Abscesos/otros	8 (1,1)	2 (0,3)	8 (1,1)	2 (0,3)
Sucesos hemorrágicos ^{§§}	65 (9,2)	39 (5,5)	23 (3,3)	10 (1,4)

AA, acontecimiento adverso; G-CHOP, obinutuzumab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; VHB, infección por hepatitis B; MedDRA, diccionario médico para actividades de registro farmacéutico; R-CHOP rituximab más ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

*Cualquier término preferente en infecciones e infestaciones por categoría de órgano, aparato o sistema.

[†]Consulta estandarizada de MedDRA.

[‡]Neutrocitopenia y complicaciones asociadas informadas como AA, sin incluir valores de laboratorio anómalos.

[§]Relacionado con cualquier tratamiento de infusión y que se produce durante/dentro de las 24 horas de la infusión.

[†]Cualquier término preferente en trastornos cardíacos por categoría de órgano, aparato o sistema.

**Cualquier término preferente en neoplasias benignas, malignas y no especificadas por categoría de órgano, aparato o sistema (incluyendo quistes y pólipos) que comenzaron 6 meses después de la primera toma del fármaco de estudio.

^{††}Al menos uno de un incremento en el nivel de ADN del VHB de ≥ 100 UI/ml o un AA de reactivación de la hepatitis B.

^{††} Consulta estandarizada de MedDRA, que comprende sucesos de perforación (términos preferentes en trastornos gastrointestinales por categoría de órgano, aparato o sistema) y abscesos y otros sucesos (términos preferentes en otras categorías de órgano, aparato o sistema).

^{§§} Consulta estandarizada de MedDRA, que comprende afecciones cerebrovasculares hemorrágicas y hemorragia (términos de laboratorio y distintos de laboratorio).

Ejemplo 1: materiales y procedimientos generales

Descripción del ensayo LST de NanoString

- 5 Si no se indica lo contrario, el ensayo LST de NanoString se realizó en el contexto de la invención de acuerdo con el manual del distribuidor (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, EE. UU.). Se proporciona otra guía sobre el ensayo en Scott (2014 y 2015 *loc cit.*).

Visión general del ensayo de CDO

- 10 El ensayo de expresión génica LST de NanoString se desarrolló para permitir la identificación de los subtipos CDO en el sistema de análisis nCounter®. El ensayo de expresión génica nCounter® conjuntamente con la tecnología NanoString proporciona un procedimiento ultrasensible y altamente multiplexado para detectar ARNm con códigos de barras moleculares denominados sondas indicadoras nCounter sin el uso de transcripción inversa o
15 amplificación (Geiss *loc. cit.*). La detección de ARNm se basa en la detección digital y el código de barras molecular directo de moléculas diana a través del uso de un par de sondas codificadas por colores. El par de sondas consiste en una sonda indicadora, que transporta la señal en su extremo 5', y una sonda de captura. Los códigos de color tienen seis posiciones y cada posición puede ser uno de cuatro colores, lo que permite por tanto una gran
20 diversidad de marcas que se pueden mezclar en un solo pocillo para la hibridación directa con la diana y aún así resolver e identificar individualmente durante la recopilación de datos. La tecnología de sondas indicadoras y de captura de NanoString emplea la sonda indicadora que lleva el código de barras codificado por colores y la sonda de captura que permite inmovilizar el complejo para la recopilación de datos.

- 25 Los pares de sondas LST personalizados se mezclan con el ARN de muestra en un exceso masivo para seleccionar ARNm para garantizar que cada diana encuentre un par de sondas. Después de la hibridación, el exceso de sondas no unidas se elimina por lavado y los complejos diana/sonda se inmovilizan en el cartucho para la recopilación de datos. La recopilación de datos se lleva a cabo en el analizador digital nCounter®. Las imágenes digitales se procesan y los recuentos de códigos de barras se tabulan en un formato de valores separados por comas (CSV) listo para la normalización de muestras y el análisis de datos.

- 30 Antes de los análisis de datos, cada muestra se normaliza a los recuentos de referencia generados a partir de la transcripción de control de referencia de ARN sintético y los genes constitutivos.

Determinación del estado de CDO en muestras de pacientes

- 35 El ensayo LST genera datos de expresión génica para cada paciente para 20 genes (véase la tabla 5). Cinco de estos genes son genes de referencia constitutivos, mientras que los otros 15 genes distinguen BCG de LBA, específicamente ocho genes son conocidos por sobreexpresarse en LDLBG similar a LBA, y siete genes son conocidos por sobreexpresarse en LDLBG similar a BCG (en base a Scott 2014 *loc.cit.*).

40 **Tabla 5 Lista de veinte genes en el ensayo LST de NanoString**

Tipo	Genes
Sobreexpresados en LDLBG similar a LBA	TNFRSF13B; LIMD1; IRF4; CREB3L2; PIM2; CYB5R2; RAB7L1; CCDC50
Genes constitutivos	R3HDM1; WDR55; ISY1; UBXN4; TRIM56
Sobreexpresados en LDLBG similar a BCG	MME; SERPINA9; ASB13; MAML3; ITPKB; MYBL1; S1PR2

- 45 Se calcula una puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) para cada paciente en base a los datos de expresión génica. La LPS es una suma ponderada de la expresión génica de los 20 genes en el ensayo LST:

$$LPS(X) = \sum_j a_j X_j,$$

- 50 donde X_j es la expresión génica para el gen j y a_j es el coeficiente para el gen j .

- A continuación, la LPS de cada paciente se compara con los umbrales predefinidos para determinar el subtipo CDO de LDLBG para un paciente. Para una puntuación LPS individual, se determina una probabilidad de si es probable que el tumor forme parte del subtipo LBA o del subtipo BCG. Los tumores con una probabilidad de ser LBA superior a un 90 % se consideran LBA, mientras que aquellos con una probabilidad de ser BCG superior a un
55 90 % se consideran BCG. Los tumores con una probabilidad de ser LBA o de ser BCG menor de un 90 %, se consideran no clasificados (Scott 2014 y 2015 *loc. cit.*)

Pautas de G-CHOP y R-CHOP

Los pacientes recibirán tratamiento con una de dos pautas de inmunquimioterapia:

- 5 • G-CHOP (grupo en investigación): quimioterapia CHOP combinada con obinutuzumab
- R-CHOP (grupo de control): quimioterapia CHOP combinada con rituximab

Obinutuzumab y rituximab se consideran medicamentos en investigación a los efectos de este protocolo.

En el grupo en investigación, se administrará obinutuzumab por infusión i.v. a una dosis absoluta (fija) de 1000 mg el día 1 de cada ciclo de 21 días durante 8 ciclos. Durante el ciclo 1, obinutuzumab también se infundirá los días 8 y 15. La administración de obinutuzumab los días en que se van a dar tanto obinutuzumab como CHOP se debe completar durante al menos 30 minutos antes de comenzar la administración de quimioterapia. Se puede dar quimioterapia CHOP el día siguiente después de la administración de obinutuzumab si la duración de la infusión de obinutuzumab necesita la administración de la infusión de CHOP el día siguiente. La quimioterapia CHOP se dará durante un máximo de 8 u 8 ciclos, como se describe en la sección 4.5.3.a y la tabla 5. Si solo se van a administrar 6 ciclos de quimioterapia CHOP (véase la tabla 5), los ciclos 7 y 8 de obinutuzumab se darán como monoterapia en una pauta de 21 días.

En el grupo de control del estudio, se administrará rituximab en una dosis de 375 mg/m² por infusión i.v. el día 1 de cada ciclo de 21 días durante 8 ciclos. Rituximab se administrará antes de CHOP, y se debe completar la infusión y observar a los pacientes durante al menos 30 minutos antes de comenzar con CHOP. Se puede dar CHOP el día 2 si la duración de la infusión de rituximab necesita la administración de la infusión de CHOP el día siguiente. Si solo se van a administrar 6 ciclos de quimioterapia CHOP (véase la tabla 5), los ciclos 7 y 8 de rituximab se darán como monoterapia en una pauta de 21 días.

La dosis de rituximab y quimioterapia se debe calcular en base al peso corporal del paciente en la evaluación de detección (día -14 a día -1). Para cambios > 10 % en el peso corporal del cribado para todas las dosis posteriores, las dosis de rituximab y quimioterapia se deben modificar en consecuencia. El peso que desencadenó un ajuste de dosis se tomará como el nuevo peso de referencia para futuros ajustes de dosis.

Como se indica en la sección 3.6.1.c, se recomienda el uso de G-CSF de acuerdo con las guías de ASCO, EORTC y ESMO para pacientes de ≥ 60 años de edad y los que presentan comorbilidades. Se recomienda plenamente en el ciclo para todos los pacientes tratados con G-CHOP.

Obinutuzumab (datos técnicos)

a Formulación

Obinutuzumab se proporciona como una formulación líquida estéril de dosis única en un vial de vidrio de calidad farmacéutica de 50 ml que contiene 1000 mg nominales de obinutuzumab (material G3). La especialidad farmacéutica formulada consiste en 25 mg/ml de sustancia farmacéutica (G3) formulada en histidina, trehalosa y poloxámero 188. El vial contiene 41 ml (con 2,5 % de sobrellenado).

Para otros detalles, véase el manual del investigador de Obinutuzumab.

b Manipulación y Almacenamiento

Las condiciones de almacenamiento recomendadas para la especialidad farmacéutica obinutuzumab están entre 2 °C y 8 °C, protegida de la luz. Se ha demostrado la estabilidad química y física en uso para diluciones de obinutuzumab en cloruro de sodio al 0,9 % (NaCl) durante 24 horas a 2 °C–8 °C, a temperatura ambiente y con iluminación ambiente. El producto diluido preparado se debe usar de inmediato. Si no se usa de inmediato, los tiempos y condiciones de almacenamiento en uso antes del uso son responsabilidad del usuario y normalmente no excederán las 24 horas a 2 °C–8 °C. Obinutuzumab no se debe congelar ni agitar. Mezcla suave. Todos los procedimientos de transferencia requieren un estricto cumplimiento de las técnicas asépticas. No se usa filtro en línea adicional debido a la posible adsorción.

Para otros detalles, véase el manual del investigador de Obinutuzumab.

c Dosis y pauta de obinutuzumab

Obinutuzumab se administrará por infusión i.v. como una dosis absoluta (fija) de 1000 mg el día 1 de cada ciclo de 21 días durante 8 ciclos. Obinutuzumab se administrará antes de CHOP, y se debe observar a los pacientes 30 minutos antes de comenzar con CHOP. Si CHOP no se completa el día 1 debido a la larga duración del tratamiento con obinutuzumab, la quimioterapia CHOP se puede administrar el día 2. Durante el ciclo 1, obinutuzumab también

se infundirá los días 8 y 15. Si la quimioterapia CHOP no se administra en los ciclos 7 y 8, obinutuzumab se administrará como monoterapia.

d Preparación de obinutuzumab

La especialidad farmacéutica obinutuzumab destinada a la infusión i.v. se prepara por dilución de la especialidad farmacéutica en una bolsa de infusión que contiene NaCl al 0,9 % hasta la concentración final del fármaco de 4 mg/ml. Usando una bolsa de infusión de 250 ml que contiene NaCl al 0,9 %, se extrae y se desechan 40 ml del cloruro de sodio. Se extraen 40 ml de obinutuzumab de un solo vial de vidrio y se inyecta en la bolsa de infusión (se desecha cualquier porción no usada de obinutuzumab que quede en el vial). Se invierte suavemente la bolsa de infusión para mezclar la solución; sin sacudir.

Son compatibles y se pueden usar equipos de administración con poli(cloruro de vinilo) (PVC), poliuretano (PUR) o polietileno como superficie de contacto de producto y bolsas i.v. con poliolefina, polipropileno (PP), PVC o polietileno como superficie de contacto de ducto.

No se usa obinutuzumab más allá de la fecha de vencimiento estampada en la caja.

e Administración de obinutuzumab

Obinutuzumab se debe administrar a los pacientes en un entorno clínico (pacientes hospitalizados o ambulatorios), donde las instalaciones completas de reanimación de emergencia estén de inmediato disponibles y los pacientes deben estar bajo la estrecha supervisión del investigador en todo momento. No se administra como bolo o inyección lenta i.v. Después del final de la primera infusión, la vía i.v. o el catéter venoso central deben permanecer en su lugar durante ≥ 2 horas para poder administrar fármacos i.v. si es necesario. Si no se producen acontecimientos adversos después de 2 horas, se puede retirar la vía i.v. o se puede retirar el acceso al catéter venoso central. Para las infusiones posteriores, la toma (a través de una vía i.v. o catéter venoso central) debe permanecer en su lugar durante al menos 1 hora desde el final de la infusión y, si no se producen acontecimientos adversos después de 1 hora, se puede retirar la toma i.v.

Véase la sección 4.3.5, Precauciones generales (para una guía sobre el uso de premedicación y profilaxis del síndrome de lisis tumoral), antes de la administración de obinutuzumab. Las instrucciones para la primera y posteriores infusiones de obinutuzumab se presentan en la tabla 1.

Tabla 8 Administración de primeras y posteriores infusiones de obinutuzumab

Primeras Infusiones (día 1)	Infusiones posteriores
<ul style="list-style-type: none"> Se comienza la infusión a una tasa inicial de 50 mg/h. Si no se produce ninguna reacción a la infusión, se incrementa la tasa de infusión en incrementos de 50 mg/h cada 30 minutos, hasta un máximo de 400 mg/h, Si se desarrolla una reacción a la infusión, se detiene la infusión o se ralentiza la infusión. Se administran medicamentos de apoyo de acuerdo con el protocolo institucional. Se reanuda la infusión con una reducción de un 50 % en la tasa (usándose la tasa en el momento en que se produjo la reacción de hipersensibilidad o relacionada con la infusión) si la reacción se resolvió. 	<ul style="list-style-type: none"> Si un paciente experimentó una reacción a la infusión durante la infusión previa, se comienza a la misma tasa que la primera infusión (50 mg/h) y se siguen las instrucciones como se indican, Si el paciente toleró bien la infusión previa (definida como una ausencia de reacciones de grado 2 durante una infusión a una tasa de ≥ 100 mg/h), se comienza la infusión a una tasa de 100 mg/h, Si no se produce ninguna reacción a la infusión, se incrementa la tasa de infusión en incrementos de 50 mg/h cada 30 minutos, hasta un máximo de 400 mg/h, Si se desarrolla una reacción a la infusión, se detiene o se ralentiza la infusión. Se administran medicamentos de reacción a la infusión y tratamientos de apoyo de acuerdo con el protocolo institucional. Se reanuda la infusión con una reducción de un 50 % en la tasa (usándose la tasa en el momento en que se produjo la reacción de hipersensibilidad o relacionada con la infusión) si la reacción se resolvió.

Obinutuzumab se debe dar como una infusión i.v. lenta a través de una vía dedicada. Se deben usar bombas de infusión i.v. para controlar la tasa de infusión de obinutuzumab. No se administra como bolo o inyección lenta i.v.

Los días en que se dan obinutuzumab y CHOP, se administrará obinutuzumab antes de CHOP y se deberá observar a los pacientes 30 minutos antes de comenzar con CHOP. Se puede dar quimioterapia CHOP el día siguiente si no se puede dar el mismo día que la administración de obinutuzumab. Antes de cada infusión de

obinutuzumab que se administra en combinación con CHOP (día 1 de los ciclos 1-6 o ciclos 1-8), los pacientes deben tomar la dosis del día 1 de prednisona oral (100 mg) especificada para cada ciclo de la pauta de CHOP. También se puede considerar el uso profiláctico de corticosteroides (por ejemplo, 100 mg de prednisolona i.v. o equivalente) para pacientes que se cree que tienen un alto riesgo de RRP, si se considera apropiado por el investigador, y también se debe administrar antes de la infusión de obinutuzumab. Para la gestión de RRP y anafilaxia, véase la sección 4.3.6.a y la tabla 3.

Quimioterapia CHOP

CHOP se considera tratamiento estándar para el tratamiento de DLBCL. Por elección del centro, los sitios elegirán antes del inicio del estudio si administrarán 8 ciclos o 6 ciclos de quimioterapia CHOP.

a Dosificación y administración

La quimioterapia CHOP consiste en ciclofosfamida i.v., doxorubicina i.v., vincristina administrada por inyección lenta i.v. y prednisona o prednisolona oral. CHOP estándar se administrará durante seis a ocho ciclos de 21 días. La quimioterapia CHOP en los ciclos 7 y 8 se administrará de acuerdo con la elección prospectiva del centro para 8 frente a 8 ciclos previstos.

- Ciclofosfamida 750 mg/m² administrada por vía intravenosa el día 1
- Doxorubicina 50 mg/m² administrada por vía intravenosa el día 1
- Vincristina 1,4 mg/m² administrada por inyección lenta i.v. el día 1 con un límite recomendado de 2,0 mg
- Prednisona 100 mg/día por vía oral (v.o.) los días 1-5

Nota: La dosis de prednisona sigue las recomendaciones de National Comprehensive Cancer Network (2010), que se basaron en Cruzman *et al.* 1999; Hidemann *et al.* 2005. Se puede reemplazar prednisona con prednisolona (conversión 1:1, 100 mg) en países donde no está disponible prednisona o no es el tratamiento de elección o se puede reemplazar con 80 mg de metilprednisolona en países o sitios que no tienen acceso a prednisona/prednisolona.

CHOP se administrará de acuerdo con los procedimientos de preparación e infusión estándar en cada centro de investigación y después de la infusión de rituximab u obinutuzumab. Véanse los prospectos de envase específicos para conocer las guías de preparación, administración y almacenamiento. A discreción del investigador, la dosis de vincristina se puede limitar a 2 mg. Para los pacientes ≥ 70 años de edad, la dosis de vincristina se puede limitar a 1,5 mg. BSA se puede limitar a 2 m² según los estándares institucionales.

Cuando obinutuzumab o rituximab y CHOP se pautan para administrarse el mismo día, se recomienda dar prednisona (100 mg) antes de la infusión de obinutuzumab o rituximab. La administración de obinutuzumab o rituximab se debe completar al menos 30 minutos antes de la administración de las infusiones de CHOP (ciclofosfamida, vincristina y adriamicina). Si es una fuerte preferencia del investigador o del sitio (por ejemplo, por motivos logísticos), se permite la administración de rituximab u obinutuzumab un día antes de la administración de CHOP con premedicación (definido en la sección 4.3.5). También se permite dividir la infusión de anticuerpo (rituximab u obinutuzumab) durante 2 días si el paciente presenta un incremento en el riesgo de RRI (carga tumoral elevada, recuento de linfocitos periféricos alto). Además, en pacientes que experimentan un acontecimiento adverso durante la infusión de obinutuzumab o rituximab, la administración de obinutuzumab se puede continuar al día siguiente si es necesario. Si se divide la dosis del ciclo 1 del día 1 de obinutuzumab, ambas infusiones se deben realizar con la premedicación adecuada y a la primera tasa de infusión (véase la tabla 2). Si se inicia CHOP después del día 1 del ciclo, a continuación el día 1 previsto del siguiente ciclo se debe calcular a partir del día en que se inició realmente CHOP, para mantener el intervalo de quimioterapia regular de 21 días.

Ejemplo comparativo 2: obinutuzumab o rituximab (más CHOP) en DLBCL sin tratamiento previo (descripción del estudio clínico de fase 3 de Roche GOYA (B021005))

Pacientes

Los pacientes elegibles tenían ≥ 18 años de edad con: DLBCL positivo para CD20 documentado histológicamente sin tratamiento previo (como se evalúa por el laboratorio de anatomía patológica local); ≥ 1 lesión medible bidimensionalmente (> 1,5 cm de la dimensión más grande en la tomografía computarizada [TC]); valoración funcional del Eastern Cooperative Oncology Group de 0-2; función hemática, hepática y renal adecuadas; fracción de eyección del ventrículo izquierdo ≥ 50 %; y una puntuación del índice pronóstico internacional (IPI) de ≥ 2 (y pacientes con una puntuación IPI de 1 de ≤ 60 años de edad, con o sin neoplasia maligna con gran masa tumoral, y los que tienen una puntuación IPI de 0 y neoplasia maligna con gran masa tumoral, es decir, una lesión ≥ 7,5 cm). Los criterios completos de inclusión/exclusión se detallan a continuación. Todos los pacientes proporcionaron su

consentimiento informado por escrito.

Criterios completos de inclusión y exclusión

- 5 Los pacientes debían cumplir con los siguientes criterios para su entrada en el estudio:
 1. Consentimiento informado por escrito.
 2. Linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBGL) positivo para CD20 sin tratamiento previo documentado
 - 10 histológicamente usando lo siguiente:
 - a. El informe anatomopatológico debe estar disponible para su evaluación y un taco de tejido enviado para confirmación central retrospectiva.
 - 15 b. Se prefieren tacos de tejido fijados con formol e incluidos en parafina; sin embargo, en países que usan un fijador diferente, se aceptará cualquier taco de tejido disponible y se incluirá la anotación del tipo de fijador.
 - c. Si no está disponible un taco de tejido, se aceptarán 15 portaobjetos sin teñir (de 3-5 µm de grosor).
 - 20 d. La muestra del depósito clínico de Roche opcional y las muestras de biomarcadores exploratorios requeridas se obtendrán del mismo taco de tejido, si no se puede realizar una confirmación central en el material enviado, también se pueden solicitar portaobjetos teñidos usados para diagnóstico.
 - 25 3. Pacientes en un grupo de riesgo de enfermedad del índice de pronóstico internacional (IPI) que es uno de los siguientes: alto, alto-intermedio o bajo-intermedio.
 - a. Los pacientes en el grupo de riesgo bajo son elegibles, pero deben tener una puntuación IPI de 1, independientemente de la neoplasia maligna con gran masa tumoral, o una puntuación IPI de 0 con neoplasia maligna con gran masa tumoral, definida como una lesión ≥ 7,5 cm.
 - 30 b. Nota: los pacientes con IPI 1 debido solo a la edad (es decir, pacientes > 60 años de edad sin otros factores de riesgo) sin neoplasia maligna con gran masa tumoral no son elegibles para este ensayo.
 - 35 4. Al menos una lesión medible bidimensionalmente definida como > 1,5 cm en su dimensión más grande en tomografía computarizada.
 5. Capacidad y disposición para cumplir con los procedimientos del protocolo de estudio.
 6. Edad ≥18 años.
 - 40 7. Valoración funcional del Eastern Cooperative Oncology Group de 0, 1 o 2.
 8. Fracción de eyección del ventrículo izquierdo ≥ 50 % en la exploración de adquisición cardiaca con sincronización múltiple o en el ecocardiograma cardiaco.
 - 45 9. Función hemática adecuada (a menos que se deba a una enfermedad subyacente, como se establece por afectación extensa de médula ósea o debido a hiperesplenismo secundario a la afectación del bazo por DLBGL según el investigador) definida como sigue:
 - 50 a. Hemoglobina ≥ 9 g/dl;
 - b. Recuento absoluto de neutrófilos ≥ 1,5 x 10⁹/l;
 - c. Recuento de plaquetas ≥ 75 x 10⁹/l.
 - 55 10. Para hombres que no son estériles quirúrgicamente: acuerdo de uso de un procedimiento anticonceptivo de barrera durante el período de tratamiento y hasta ≥ 3 meses después de la última dosis de obinutuzumab o rituximab, o de acuerdo con las guías institucionales para quimioterapia CHOP, lo que sea más prolongado, y acuerdo para solicitar que sus parejas usen un procedimiento anticonceptivo adicional, tal como anticonceptivos orales, dispositivo intrauterino, procedimiento de barrera o gel espermicida.
 - 60 11. Para mujeres en edad reproductiva que no son estériles quirúrgicamente: acuerdo de uso de dos procedimientos anticonceptivos adecuados, tales como anticonceptivos orales, dispositivo intrauterino o procedimiento anticonceptivo de barrera junto con gel espermicida durante el período de tratamiento y hasta ≥ 12 meses después de la última dosis de obinutuzumab o rituximab, o de acuerdo con las guías institucionales para quimioterapia CHOP, lo que sea más prolongado.
 - 65

Pacientes que cumplieron cualquiera de los siguientes criterios excluidos de la entrada en el estudio:

- 5 1. Antecedentes de reacciones alérgicas o anafilácticas graves a anticuerpos monoclonales humanizados o murinos, o sensibilidad o alergia conocida a productos murinos o a cualquier componente de CHOP u obinutuzumab.
- 10 2. Contraindicación de cualquiera de los componentes individuales de CHOP, incluyendo la recepción previa de antraciclinas.
3. Pacientes con linfoma transformado y pacientes con linfoma folicular en estadio 3b.
4. Tratamiento previo para DLBGL, con la excepción de biopsia ganglionar o irradiación local.
- 15 5. Tratamiento previo con fármacos citotóxicos o rituximab para otra afección (por ejemplo, artritis reumatoide) o uso previo de un anticuerpo anti-CD20.
6. Uso previo de cualquier anticuerpo monoclonal dentro de los 3 meses posteriores al inicio del ciclo 1.
- 20 7. Uso de corticosteroides > 30 mg/día de prednisona o equivalente, con propósitos distintos al control de síntomas de linfoma.
 - a. Los pacientes que reciben tratamiento con corticosteroides con ≤ 30 mg/día de prednisona o equivalente deben estar documentados con una dosis estable de al menos 4 semanas de duración antes de la aleatorización (ciclo 1, día 1).
 - 25 b. Si se requiere urgentemente tratamiento con glucocorticoides para el control de los síntomas del linfoma antes del inicio del tratamiento del estudio, se pueden administrar 100 mg de prednisona o equivalente durante un máximo de 5 días, pero todas las evaluaciones tumorales se deben completar antes del inicio del tratamiento con glucocorticoides.
- 30 8. Linfoma del sistema nervioso central (SNC) primario y afectación del SNC secundaria por linfoma, linfoma de células del manto o pruebas histológicas de transformación a un linfoma de Burkitt, DLBGL mediastínico primario, linfoma de efusión primario, linfoma plasmablastico y DLBGL cutáneo primario.
- 35 9. Vacunación con vacunas vivas dentro de los 28 días antes a la aleatorización.
10. Cualquier tratamiento en investigación dentro de los 28 días antes del inicio del ciclo 1.
- 40 11. Antecedentes de otras neoplasias malignas que podrían afectar al cumplimiento del protocolo o a la interpretación de resultados.
 - a. Son elegibles pacientes con antecedentes de carcinoma basocelular o de células escamosas tratado curativamente, o melanoma de la piel o carcinoma *in situ* del cuello uterino en cualquier momento antes del estudio.
 - 45 b. Son elegibles pacientes con cualquier otra neoplasia maligna que se haya tratado con cirugía sola con intención curativa y la neoplasia maligna haya estado en remisión sin tratamiento durante ≥ 5 años antes de la inclusión.
- 50 12. Pruebas de enfermedades concomitantes significativas y no controladas que podrían afectar al cumplimiento del protocolo o a la interpretación de resultados, incluyendo cardiovascular patología significativa (tal como cardiopatía de clase III o IV según la Asociación Neoyorquina de Cardiología, infarto de miocardio en los últimos 6 meses, arritmias inestables o angina de pecho inestable) o enfermedad pulmonar (incluyendo enfermedad pulmonar obstructiva y antecedentes de broncoespasmo).
- 55 13. Cirugía mayor reciente (dentro de las 4 semanas antes del inicio del ciclo 1), que no sea para diagnóstico.
14. Cualquiera de los siguientes valores de laboratorio anómalos (a menos que cualquiera de estas anomalías se deba a un linfoma subyacente):- 60 a. Creatinina > 1,5 veces el límite superior de lo normal (LSN; a menos que el aclaramiento de creatinina sea normal), o aclaramiento de creatinina calculado < 40 ml/min (usando la fórmula de Cockcroft-Gault).
- b. Aspartato aminotransferasa o alanina aminotransferasa > 2,5 x LSN.
- 65 c. Bilirrubina total $\geq 1,5$ x LSN: los pacientes con enfermedad de Gilbert documentada se pueden incluir si la

bilirrubina total es $\leq 3,0 \times \text{LSN}$.

d. Índice internacional normalizado $> 1,5 \times \text{LSN}$ en ausencia de anticoagulación terapéutica.

5 e. Tiempo de tromboplastina parcial o tiempo de tromboplastina parcial activada $> 1,5 \times \text{LSN}$ en ausencia de un anticoagulante lúpico.

10 15. Infección bacteriana, viral, fúngica, micobacteriana, parasitaria o de otro tipo activa conocida (excluyendo infecciones fúngicas de lechos ungueales) o cualquier episodio importante de infección que requiera tratamiento con antibióticos intravenosos u hospitalización (en relación con la finalización del ciclo de antibióticos, excepto si se trata de fiebre por tumor) dentro de las 4 semanas antes del inicio del ciclo 1.

16. Pacientes con sospecha de tuberculosis activa o latente.

15 a. La tuberculosis latente se debe confirmar por un ensayo de liberación de interferón-gamma positivo.

17. Resultados de prueba positivos para la infección por hepatitis B crónica (definida como serología positiva para HBsAg).

20 a. Se pueden incluir pacientes con infección por hepatitis B asintomática o previa (definida como positiva para anticuerpo central del virus de la hepatitis B total y negativa para HBsAg) si el ADN del VHB es indetectable. Estos pacientes deben estar dispuestos a someterse a pruebas de ADN mensuales.

18. Resultados de prueba positivos para hepatitis C (prueba serológica de anticuerpos contra el VHC).

25 a. Los pacientes positivos para anticuerpos contra el VHC son elegibles solo si la reacción en cadena de la polimerasa es negativa para el ARN del VHC.

19. Antecedentes conocidos de estado seropositivo para VIH.

30 a. Para pacientes con estado de VIH desconocido, la prueba del VIH se realizará en el cribado si así lo requieren las normativas locales.

20. Resultados positivos para el virus linfótropo T humano 1 (HTLV).

35 a. Se requieren pruebas de HTLV para pacientes en sitios en países endémicos (Japón y Melanesia, y países de la cuenca del Caribe, Suramérica, América Central y África subsahariana).

21. Pacientes con antecedentes de leucoencefalopatía multifocal progresiva confirmada.

40 22. Embarazo o lactancia.

23. Esperanza de vida de < 12 meses.

45 **Diseño y tratamientos del estudio**

GOYA es un estudio de fase 3 multicéntrico, abierto, aleatorizado. Los pacientes se aleatorizaron (proporción 1:1) para recibir ocho ciclos de 21 días de G (1000 mg por vía intravenosa [i.v.] los días 1, 8 y 15 del ciclo 1, y el día 1 de los ciclos 2–8) o R (375 mg/m² i.v. el día 1, ciclos 1–8), más 6 u 8 ciclos de CHOP a las siguientes dosis: ciclofosfamida 750 mg/m² i.v. (día 1); doxorubicina 50 mg/m² i.v. (día 1); vincristina 1,4 mg/m² i.v. (día 1, máximo 2,0 mg); y prednisona 100 mg/día por vía oral (días 1–5). El número de ciclos de CHOP para ambos grupos se acordó de antemano con cada centro de estudio; si solo se administraron 6 ciclos de CHOP, el anticuerpo se administró como monoterapia durante los ciclos 7–8. Se permitió radioterapia prevista previamente en los sitios iniciales de neoplasia maligna con gran masa tumoral o extraganglionar dentro de las 8 semanas del día 1 del último ciclo de anticuerpos y después de la finalización de las evaluaciones del final del tratamiento. Los detalles de los medicamentos previos, tratamientos concomitantes permitidos y motivos permitidos para retrasos/reducciones de dosis se dan en el apéndice complementario. La aleatorización fue por medio de un sistema interactivo de voz con estratificación de acuerdo con el número de ciclos de quimioterapia previstos (6/8 ciclos de CHOP), puntuación IPI y región geográfica (Europa occidental, Europa oriental, Suramérica y Centroamérica, Norteamérica y Asia y otros).

GOYA se llevó a cabo de acuerdo con la European Clinical Trial Directive (para centros europeos) y la International Conference on Harmonization guidelines for Good Clinical Practice. El protocolo se aprobó por los comités de ética de centros participantes y registrado en ClinicalTrials.gov (NCT01287741).

Medicamentos previos, alteraciones de dosis y tratamientos permitidos

Todos los pacientes recibieron premedicación con paracetamol oral y un antihistamínico antes de la administración de obinutuzumab (G) o rituximab (R). Se recomendó que la administración de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP) se iniciara al menos 30 minutos después de la administración de G o R. En cada ciclo cuando se dio G o R con CHOP, se administró la dosis del día 1 de prednisona oral antes de la infusión de anticuerpos. También se podría administrar un tratamiento adicional con glucocorticoides a pacientes considerados de alto riesgo de reacciones relacionadas con infusión. Se recomendó profilaxis de lisis tumoral (adecuada hidratación y alopurinol) para pacientes con alta carga tumoral y que se consideraban en riesgo de lisis tumoral. Las dosis de tratamiento se retrasaron hasta 2 semanas en el suceso de toxicidad hemática de grado 3 o 4 o toxicidad no hemática de grado 2-4; si la toxicidad no se resolvió, se retiró al paciente del tratamiento del estudio. Se permitieron reducciones de dosis para quimioterapia, pero no para G o R.

Se recomendó la profilaxis con G-CSF para pacientes de ≥ 60 años de edad y/o con comorbilidades y durante el ciclo 1 para todos los pacientes del grupo de G-CHOP. También se permitió G-CSF para el tratamiento de neutrocitopenia. Se prohibió el uso de quimioterapia (distinta de CHOP), inmunoterapia, tratamiento hormonal (distinto de anticonceptivos, tratamiento de reemplazo hormonal o acetato de megestrol) y cualquier tratamiento destinada al tratamiento de linfoma (para radioterapia, véase el texto principal).

Criterios de valoración y evaluaciones del estudio

El criterio de valoración de estudio principal fue la supervivencia sin progresión (SSP) evaluada por el investigador, definida como el tiempo desde la fecha de aleatorización hasta la primera aparición de progresión de la enfermedad, recidiva o muerte por cualquier causa. Para descartar sesgos y respaldar el análisis primario, también se evaluó la SSP por un comité de evaluación independiente (IRC). Los criterios de valoración secundarios incluyeron la supervivencia global (SG), supervivencia sin sucesos (SSS), tasa de RC, la tasa de respuesta global (TRG, incluyendo RC y respuesta parcial), supervivencia sin enfermedad (SSE), duración de la respuesta, tiempo hasta el siguiente tratamiento antilinfoma (TINT) y seguridad. También se analizó la SSP en subgrupos de células de origen (CDO) de DLBCL (similar a linfocitos B del centro germinativo [BCG], similar a linfocitos B activados [LBA] y no clasificado; análisis exploratorio). La clasificación de CDO se basó en el perfil de expresión génica usando la prueba de subtipificación de linfoma de uso exclusivo para investigación de NanoString (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, EE. UU.).

La respuesta y progresión del tumor se evaluaron por el investigador usando exámenes clínicos y de laboratorio regulares y tomografías computarizadas, de acuerdo con los criterios de respuesta revisados para linfoma maligno (Cheson, J Clin Oncol 25, 2007, 579-586). Para aquellos pacientes con tomografía por emisión de positrones con ^{18}F -fludesoxiglucosa (FDG-PET) (obligatorio en los sitios con un escáner PET), se realizó una evaluación de respuesta separada que incorporó los resultados de FDG-PET. El análisis del criterio de valoración principal se basó en la evaluación de todos los pacientes usando TAC convencional. La respuesta se evaluó 4-8 semanas (TC) o 6-8 semanas (FDG-PET) después del último tratamiento de estudio, o antes en caso de interrupción temprana.

La seguridad se evaluó siguiendo y registrando todos los acontecimientos adversos (AA) y AA graves (AAG), incluyendo anomalías identificadas a partir de evaluaciones de laboratorio, medición de signos vitales y exploración física. Los AA se calificaron usando los criterios terminológicos comunes para acontecimientos adversos del Instituto Nacional del Cáncer de los Estados Unidos v4.0. Las evaluaciones de seguridad de laboratorio incluyeron hematología y análisis bioquímico de sangre de rutina, y pruebas de parámetros inmunológicos. Un comité independiente de seguimiento de datos (IDMC) realizó revisiones de seguridad periódicas.

Análisis estadístico

El tamaño de muestra se calculó para permitir la detección de una reducción del 25 % en el riesgo de progresión de enfermedad, recidiva o muerte con G-CHOP frente a R-CHOP (es decir, un cociente de riesgos instantáneos [CRI] de SSP para G-CHOP sobre R-CHOP de 0,75), con un nivel alfa bilateral de 0,05 y 80 % de potencia. Para lograr esto, y teniendo en cuenta una tasa de abandono anual de un 5 %, se necesitaron 405 acontecimientos de SSP para el análisis primario, lo que requirió la inclusión de 1400 pacientes durante 3 años.

Las evaluaciones de eficacia se realizaron en la población por intención de tratar (ITT), que comprende todos los pacientes aleatorizados. La población del análisis de seguridad incluyó todos los pacientes que recibieron cualquier fármaco del estudio (anticuerpo o CHOP). La comparación de tratamientos de SSP se realizó usando una prueba de rango logarítmico estratificado de nivel 0,05 bilateral. Se usó el procedimiento de Kaplan-Meier para estimar la distribución de SSP para cada grupo de tratamiento. Las estimaciones del efecto del tratamiento se expresaron como CRI usando un análisis de riesgos proporcionales de Cox estratificado, incluyendo intervalos de confianza (IC) de un 95 %.

El IDMC evaluó la eficacia y la seguridad en tres análisis provisionales formales; dos por futilidad y uno por eficacia. Los análisis de subgrupos previstos previamente evaluaron el efecto de las características de pacientes de

referencia seleccionadas, incluyendo el subtipo CDO, sobre SSP.

Resultados

5 Visión general

Después de una mediana de observación de 29 meses, el número de sucesos de SSP evaluados por el investigador fue similar con G (201, 28,5 %) y R (215, 30,2 %); el cociente de riesgos instantáneos estratificado fue de 0,92 (intervalo de confianza de un 95 %, 0,76 a 1,11; $p = 0,39$); Las tasas de SSP a 3 años fueron de un 70 % y un 67 %, respectivamente. Los criterios de valoración secundarios de SSP revisada de forma independiente, otros criterios de valoración del tiempo hasta el acontecimiento y las tasas de respuesta tumoral fueron similares entre los grupos. En los análisis de subgrupos exploratorios, los pacientes con subtipo similar a linfocitos B del centro germinativo tuvieron mejor SSP que los de similar a linfocitos B activados, independientemente del tratamiento. Las frecuencias de acontecimientos adversos de grado 3-5 (AA; 73,7 % frente a 64,7 %) y AA graves (42,6 % frente a 37,6 %) fueron mayores con G-CHOP. Las frecuencias de AA mortales fueron de un 5,8 % para G-CHOP y de un 4,3 % para R-CHOP. Los AA más comunes fueron neutrocitopenia (G-CHOP, 48,3 %; R-CHOP, 40,7 %), reacciones relacionadas con infusión (36,1 %; 23,5 %), náuseas (29,4 %; 28,3 %) y estreñimiento (23,4 %; 24,5 %).

20 Características del paciente y tratamiento

Se incluyeron pacientes en 207 centros en 29 países. Un total de 1418 pacientes se aleatorizaron entre julio de 2011 y junio de 2014 para recibir G-CHOP ($n = 706$) o bien R-CHOP ($n = 712$), y 1188 pacientes (G-CHOP, 587; R-CHOP, 601) completaron el tratamiento previsto (fig. 1). Los AA fueron el motivo principal de interrupción del tratamiento de estudio (anticuerpos) en ambos grupos, y de esto se informó con más frecuencia en el grupo de G-CHOP. La interrupción del tratamiento de estudio (anticuerpo) como resultado de enfermedad progresiva fue aproximadamente el doble de frecuente en el grupo R-CHOP en comparación con el grupo G-CHOP.

Las características de enfermedad demográficas y de referencia se equilibraron bien entre los dos grupos (tabla 1). La información del subgrupo de CDO estaba disponible para 933 pacientes; la distribución por subtipo se equilibró bien y no hubo diferencias clínicamente pertinentes entre grupos dentro de los subtipos CDO. Los motivos de información de CDO que no consta fueron: una licencia de exportación de muestras china restringida que impedía las evaluaciones de biomarcadores ($n = 252$), LDLBG positivo para CD20 no confirmado por el laboratorio central ($n = 102$; se debe tener en cuenta que se equilibraron estos pacientes entre los grupos de tratamiento: G-CHOP, $n = 53$; R-CHOP, $n = 49$) y tejido que no consta/inadecuado ($n = 131$).

La mediana de duración de exposición fue de 25,3 (intervalo, 1-32) semanas para G y 25,3 (0-32) semanas para R. La intensidad de dosis de G y R excedió un 90 % para un 95,3 % y un 99,1 % de los pacientes, respectivamente. La mayoría de los pacientes en ambos grupos (> 88 %) recibieron más de un 90 % de la dosis prevista de cada componente de CHOP. Los retrasos en dosis de anticuerpos fueron más frecuentes en el grupo de G-CHOP: al menos un retraso de ≤ 7 días (G-CHOP, 34,9 %; R-CHOP, 30,0 %) y de > 7 días (G-CHOP, 13,1 %; R-CHOP, 9,1 %) (tabla 5). 103 pacientes (G-CHOP, 49; R-CHOP, 54) recibieron tratamiento antilinfoma nuevo (no previsto) antes de la progresión de la enfermedad, incluyendo radioterapia para 23 pacientes con signos de enfermedad residual después de la finalización del tratamiento del estudio (G-CHOP, 9; R-CHOP, 14) y 227 pacientes (G-CHOP, 102; R-CHOP, 125) después de la progresión de la enfermedad.

Eficacia

El 30 de abril de 2016, y después de una mediana de observación de 29 meses, el número de sucesos de SSP evaluados por el investigador en la población ITT fue similar para G-CHOP (201, 28,5 %) y R-CHOP (215, 30,2 %), con CRI estratificado, 0,92 (IC 95 %, 0,76 a 1,11; $p = 0,3868$). Las tasas estimadas de SSP a 3 años fueron de un 69,6 % y un 66,9 %, respectivamente (fig. 2A; tabla 2).

Los criterios de valoración secundarios fueron consecuentes con el criterio de valoración principal, sin diferencias clínicamente significativas entre los grupos de tratamiento para SSP evaluada por el IRC o cualquier otro criterio de valoración de tiempo hasta el suceso (SG, SSS, SSE y TTNT) (fig. 2B, tabla 2, fig. 13).

Análisis de subgrupos y exploratorios

La eficacia de G-CHOP frente a R-CHOP (CRI no estratificado para SSP evaluada por el investigador) fue en general similar en los subgrupos de pacientes seleccionados, incluyendo pacientes que recibieron 8 frente a 8 ciclos de CHOP (fig. 3).

El análisis de Kaplan-Meier de SSP en pacientes con diferentes subtipos CDO (independientemente del tratamiento del estudio) sugirió que el subtipo BCG se asocia con un mejor resultado que LBA o los subtipos no clasificados. Los CRI para SSP fueron 1,71 (IC 95 %, 1,31 a 2,23) para la comparación LBA-BCG, 1,57 (IC 95 %, 1,14 a 2,15)

para la comparación no clasificado-BCG y 1,08 (IC 95 % 0,77 a 1,52) para la comparación LBA-no clasificado (fig. 2C); las tasas de SSP a 3 años fueron de un 75 %, 59 % y 63 % para los subtipos BCG, LBA y no clasificado, respectivamente. En un análisis exploratorio de la SSP evaluada por el investigador, el CRI estratificado para G-CHOP en relación con R-CHOP para los 933 pacientes con datos de CDO disponibles fue de un 0,82 (IC 95 %, 0,64 a 1,04), lo que sugiere un potencial sesgo de selección frente a la población de ITT. El CRI estratificado para 540 pacientes en el subgrupo de CDO BCG fue de 0,72 (IC 95 %, 0,51 a 1,03; SSP a 3 años, 79 % [G-CHOP] frente a 71 % [R-CHOP]); no se observaron diferencias clínicamente significativas en SSP entre grupos de tratamiento en los 243 pacientes con subtipo LBA (CRI, 0,86 [IC 95 %, 0,57 a 1,29]; SSP a 3 años, 61 % frente a 58 %) o 150 pacientes con subtipo CDO no clasificado (CRI, 1,02 [IC 95 %, 0,60 a 1,75]; SSP a 3 años, 62 % frente a 64 %; fig. 14).

Seguridad

En la población de seguridad, la proporción de pacientes que experimentaron al menos un AA de cualquier grado fue similar en los grupos G-CHOP y R-CHOP (97,0 % [683/704] y 93,5 % [657/703], respectivamente) (tabla 3). Los AA más comunes en ambos grupos fueron neutrocitopenia (G-CHOP, 48,3 %; R-CHOP, 40,7 %), reacciones relacionadas con infusión (RRI; 36,1 %; 23,5 %), náuseas (29,4 %; 28,3 %) y estreñimiento (23,4 %; 24,5 %) (tabla 6). Los AA de grado 3-5 fueron más comunes en el grupo de G-CHOP (73,7 % [519/704] frente a 64,7 % [455/703]), al igual que los AAG (42,6 % [300/704] frente a 37,6 % [264/703]). Los AA de grado 3-5 más comunes en ambos grupos fueron neutrocitopenia (G-CHOP, 46,2 %; R-CHOP, 38,1 %), infecciones (19,2 %; 15,5 %), neutrocitopenia febril (17,5 %; 15,2 %) y leucocitopenia (13,6 %; 10,1 %) (tabla 3).

El análisis de AA de particular interés mostró que las infecciones, neutrocitopenia, RRI, complicaciones cardíacas, trombocitopenia y sucesos hemorrágicos de cualquier grado (así como AA de grado 3-5 y AAG) fueron más comunes con G-CHOP que con R-CHOP (tabla 7). Cabe destacar que las tasas de reactivación de hepatitis B fueron mayores con G-CHOP (2,3 %) que con R-CHOP (0,9 %), la mayoría de los acontecimientos fueron de grado 1 o 2, y los acontecimientos de grado 3 o 4 se equilibraron bien entre los dos grupos (G-CHOP 0,3 % frente a R-CHOP 0,3 %). Todos los demás grupos de AA de particular interés, a saber, infecciones oportunistas, síndrome de lisis tumoral, neoplasias malignas secundarias y perforación gastrointestinal (excluyendo abscesos) se produjeron con frecuencias similares en los dos grupos (tabla 7).

Una proporción similar de pacientes en cada grupo recibió al menos una dosis de G-CSF durante el estudio (G-CHOP, 611 [86,5 %]; R-CHOP, 586 [82,3 %]).

Una mayor proporción de pacientes en el grupo G-CHOP que en el grupo R-CHOP interrumpieron ≥ 1 componente del tratamiento de estudio debido a un AA (84 [11,9 %] frente a 60 [8,5 %]). 71 pacientes experimentaron AA mortales (G-CHOP, 5,8 % [41/704]; R-CHOP, 4,3 % [30/703]) y se detallan en la tabla 3.

ANÁLISIS

En el estudio actual de pacientes con DLBCL sin tratamiento previo, G-CHOP y R-CHOP demostraron una eficacia similar para todos los criterios de valoración de tiempo hasta el acontecimiento, y no se cumplió el criterio de valoración del estudio principal de SSP evaluada por el investigador. La falta de superioridad de G-CHOP sobre R-CHOP en una población con LNH agresivo contrasta con los resultados de los estudios que evalúan G en LLC y LF. En el estudio GALLIUM, el tratamiento de inducción y mantenimiento basado en G mejoró significativamente la SSP evaluada por el investigador en relación con el tratamiento basado en R en 1202 pacientes con LF sin tratamiento previo (Marcus *loc. cit.*). G también prolongó la SSP en relación con R en pacientes con LLC no tratados (n = 663) cuando ambos se combinaron con clorambucilo en el estudio de LLC11 de fase 3 (Goede *loc. cit.*).

Dadas las ventajas del tratamiento basado en G en pacientes con LF y LLC, la falta de beneficio de G-CHOP en pacientes con DLBCL en GOYA fue inesperada. Se podría deber simplemente a las diferencias en los perfiles biológicos y clínicos entre enfermedades linfoproliferativas de escasa malignidad, tales como LF y LLC, y las agresivas, tales como DLBCL (Lenz, N. Engl. J. Med. 362, 2010, 1417-1429; Lim *loc. cit.*). De hecho, obinutuzumab puede ser más beneficioso en linfomas que son menos agresivos o, como LF, que se derivan del centro germinativo. La tendencia hacia un beneficio de G-CHOP sobre R-CHOP en GOYA para el subtipo BCG, que se deriva del centro germinativo y es conocido por ser más como LF en comparación con otros subtipos de DLBCL (Morin, Nature 478 2011, 298-303; Shaffer, Nat. Rev. Immunol. 2, 2002, 920-932), con un pronóstico más favorable y microambiente inmunitario diferente que los subtipos LBA y no clasificado, parece apoyar este hallazgo. El diferente mecanismo de acción de obinutuzumab y rituximab también puede desempeñar un papel en el beneficio diferencial de estos agentes en LF y DLBCL, sin embargo, aún no hay datos disponibles para respaldar esta afirmación. Los análisis en curso de datos de biomarcadores GOYA proporcionarán información adicional sobre estas diferencias. De forma notable, las interrupciones de dosis y dosis omitidas en el ciclo 1 fueron más frecuentes con G-CHOP, lo que refleja una mayor tasa de AA (RRI y citopenias); esto podría haber contribuido a la falta de beneficio de eficacia en comparación con R-CHOP.

Desde la mejora drástica en los resultados después de que se añadiera por primera vez rituximab a CHOP (Coiffier

loc. cit.), no se han logrado avances importantes en la gestión de pacientes con DLBGL. Los ensayos aleatorizados no lograron mostrar un beneficio de acortar los intervalos entre ciclos (Cunningham, Lancet 381, 2013, 1817-1826), o de la consolidación con quimioterapia de dosis alta y trasplante autólogo de células madre (Stiff, N. Engl. J. Med. 369, 2013, 1681-1690; Schmitz, Lancet Oncol 13, 2012, 1250-1259); la adición de bortezomib a R-CHOP tampoco logró mejorar los resultados en un ensayo aleatorizado de pacientes con DLBGL distinto de BCG (Leonard, Blood 126, 2015, 811), y el mantenimiento con lenalidomida no mejoró la SG (Thieblemont, Blood 128, 2016, 471). Dado el comportamiento agresivo de DLBGL, la sustitución de rituximab por un nuevo anticuerpo anti-CD20 con un diferente mecanismo de acción puede no ser suficiente para superar la refractariedad a la quimioterapia. Las combinaciones de anticuerpos conjugados con fármacos o agentes anti-BCL2 con R-CHOP podrían ser más prometedoras, como se muestra por resultados preliminares de estudios recientes de fase 1/2 (Zelenetz, Blood 128, 2016, 3032; Tilly, Blood 128, 2016, 1853).

La determinación del estado de CDO usando perfiles de expresión génica ha identificado subtipos biológicamente distintos de DLBGL, incluyendo los subtipos de origen BCG y LBA (Lenz, Proc Natl Acad Sci USA 105, 2008, 13520-13525; Scott, J. Clin. Oncol. 33, 2015, 2848-2856). Estos subtipos moleculares tienen implicaciones importantes para la oncogénesis y el resultado del tratamiento, como se refleja por su inclusión en la clasificación actual de la Organización Mundial de la Salud para DLBGL (Swerdlow, Blood 127, 2016, 2375-2390). Los pacientes con el subtipo BCG típicamente tienen resultados más favorables, mientras que el subtipo LBA se ha asociado con resultados inferiores después de quimioterapia o inmunquimioterapia (incluyendo R-CHOP), y puede representar un subconjunto de pacientes con riesgo bajo con necesidades médicas no cubiertas (como se muestra en estudios retrospectivos) (Lenz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA *loc. cit.*; Scott 2015 *loc. cit.*). GOYA es el estudio prospectivo más grande para evaluar el impacto de CDO en los resultados clínicos. La comparación de SSP por subtipo CDO fue consecuente con un mejor resultado en DLBGL BCG, indicando el CRI un incremento de un 70 % en el riesgo de progresión de la enfermedad en pacientes con LBA en relación con el subtipo BCG. El resultado para el subgrupo no clasificado fue similar al del subgrupo LBA, lo que contrasta con lo que se ha informado en algunos estudios previos (Scott 2015 *loc. cit.*). De forma interesante, la clasificación de CDO no se correlacionó con la TRG y/o evaluación preliminar de SSP en otros estudios definidos prospectivamente, como REMoDL-B (Davies, Blood 128, 2015, 812) o PYRAMID (Leonard *loc. cit.*), aunque estos estudios usaron diferentes ensayos de CDO. Los tratamientos específicos dirigidos a subtipos CDO de DLBGL pueden ofrecer una estrategia alternativa para mejorar los resultados. Seleccionar selectivamente el receptor de linfocitos B o las vías de NF- κ B, por ejemplo, puede resultar beneficioso en los subtipos de DLBGL (LBA o distinto de BCG), como se sugiere por los resultados de estudios de fase 2 que evaluaron lenalidomida o ibrutinib con R-CHOP (Nowakowski, J Clin Oncol 33, 2015, 251-257; Vitolo, Lancet Oncol. 152014, 730-737; Younes, Lancet Oncol 15, 2014, 1019-1026). Estas estrategias se están evaluando actualmente en estudios aleatorizados de fase 3.

El perfil y la naturaleza de los AA informados entre pacientes tratados con G-CHOP fueron como se esperaba, sin nuevas señales de seguridad. La incidencia de AA de grado 3-5, AAG e interrupciones del tratamiento debido a AA fue ligeramente mayor en el grupo G-CHOP que en el grupo R-CHOP, en consonancia con lo que se ha informado en otros estudios. Estas discrepancias se pueden deber a diferentes propiedades estructurales y biológicas de G y R.

En conclusión, el estudio actual demostró que G-CHOP no mejoró la SSP en una gran población de pacientes con DLBGL sin tratamiento previo en comparación con R-CHOP, que sigue siendo el tratamiento estándar para estos pacientes. No se identificaron nuevas señales de seguridad.

Ejemplo 3: superioridad de obinutuzumab sobre rituximab en nuevos subgrupos de DLBGL (definido por biomarcadores predictivos; descripción y resultados de análisis exploratorios del estudio clínico de fase 3 GOYA)

Ejemplo 3.1: Gazyva™-CHOP es superior a rituximab-CHOP en un subconjunto definido por biomarcadores de DLBGL - Resultados del ensayo clínico en fase 3 de Roche GOYA (BO21005)

Sumario

Rituximab (R) más quimioterapia CHOP es el tratamiento de referencia en linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBGL) sin tratamiento previo. Obinutuzumab (G) es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 de tipo II glucomanipulado. GOYA fue un estudio aleatorizado de fase 3 que comparó G-CHOP y R-CHOP en DLBGL en estado avanzado sin tratamiento previo. El ensayo GOYA en DLBGL 1L no cumplió con su criterio de valoración principal: CRI estratificado, SSP: 0,92 (IC 95 % 0,76-1,12), pero el ensayo GALLIUM demostró la superioridad de Gazyva sobre Rituximab en LF 1L (CRI 0,66, IC 95 % 0,51-0,85; actualmente en trámite).

En los análisis exploratorios de GOYA, se observa superioridad de Gazyva™ sobre Rituximab en un subconjunto de pacientes con DLBGL BCG y/o también en pacientes con mutaciones en CD58 y/o baja expresión de CD58. Esta es la primera vez que se ha identificado un beneficio de Gazyva en un subgrupo definido por biomarcadores de DLBGL.

Los resultados sugieren que (un) subconjunto(s) de pacientes con DLBCL BCG que responden a Gazyva se puede(n) identificar de varias formas, por ejemplo, determinando la translocación de BCL2 y la sobreexpresión de proteína BCL2, y también midiendo el perfil de expresión génica, por ejemplo, por el ensayo de célula de origen (CDO) de Nanostring usando valores de corte novedosos para la puntuación de factor pronóstico lineal, LPS.

Procedimientos

La clasificación de células de origen (CDO) en subgrupos de linfocitos B del centro germinativo (BCG), linfocitos B activados (LBA) y no clasificado se basó en perfiles de expresión génica usando la prueba de subtipificación de linfoma de uso exclusivo para investigación de NanoString (NanoString Technologies, Inc., Seattle, WA, EE. UU.).

La puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) es una variable continua (promedio ponderado para la expresión génica de los genes en el ensayo de subtipado de linfomas de Nanostring) con un intervalo en GOYA de -1138 a 4504. Normalmente, la LPS se usa para clasificar pacientes en los subgrupos de CDO BCG, LBA, no clasificado. El algoritmo de CDO predeterminado usa un enfoque bayesiano con clasificación de BCG/LBA en base a un valor de corte de ≥ 90 % en la verosimilitud de ser BCG o LBA (no clasificado funciona como tampón).

La LPS se ha analizado directamente para el resultado clínico por primera vez. La LPS se trató como una variable continua para la evaluación del efecto del tratamiento (eficacia de G-CHOP frente a R-CHP) en análisis exploratorios no especificados en el ensayo GOYA.

Se evaluaron las translocaciones de BCL-2 usando Bcl-2 Dual Color Break Apart (Vysis, Abbott Molecular) y también con el ensayo de secuenciación de segunda generación de Foundation Medicine, FoundationOne Heme. La expresión de proteína BCL-2 se evaluó usando un ensayo 1HC de uso en investigación de Ventana (clon de anticuerpo BCL2, 124). La expresión génica del transcriptoma completo en el ensayo GOYA se evaluó con el kit de prep. de colecciones de acceso a ARN TruSeq®. Se identificaron mutaciones de CD58 usando el panel de genes de FoundationOne Heme.

Resultados

Se identificaron subgrupos de DLBCL definidos por biomarcadores que se benefician de G (G-CHOP) sobre R (R-CHOP):

- pacientes con BCL2 translocada (véase la figura 4)
- pacientes con sobreexpresión de proteína BCL2 (véase la figura 5)
- pacientes con BCL2 translocada con sobreexpresión de proteína BCL2 (véase la figura 6)
- Un subconjunto de pacientes con DLBCL BCG. Estos se pueden identificar como:
 - Clasificación de subgrupo novedoso de pacientes BCG por valores de corte novedosos de la puntuación de factor pronóstico lineal en el subgrupo novedoso "BCG fuerte" (pacientes con LPS < valor de corte) (véase la figura 7)
 - o pacientes con BCG con alta expresión génica de BCL2
 - o pacientes con BCG con sobreexpresión de proteína BCL2
 - o pacientes con BCG con translocación de BCL2
 - o pacientes con BCG con translocación de BCL2 con sobreexpresión de proteína BCL2 (véase la figura 8)
- En general, pacientes con CD58 mutada y/o pacientes con baja expresión de CD58 (véase la figura 9)

Ejemplo 3.2: superioridad de obinutuzumab sobre rituximab en un nuevo subgrupo de DLBCL similar a LF molecular - Resultados del ensayo de fase 3 GOYA

Procedimientos

GOYA fue un estudio de fase 3 aleatorizado, abierto, que comparó G-CHOP 1L con R-CHOP en 1418 pacientes con DLBCL. Las pruebas de biomarcadores se realizaron en tejido tumoral fijados con formol e incluido en parafina, obtenido antes del tratamiento y sometido a prueba retrospectivamente en laboratorios centrales. Se evaluó la CDO usando LST de uso exclusivo en investigación de NanoString (NanoString Technologies Inc., Seattle, WA, EE. UU.) en 933 pacientes. Los análisis de biomarcadores adicionales usados para caracterización molecular

incluyeron la secuenciación dirigida a ADN de 467 genes usando el panel FoundationOne® Heme (FOH) (n = 499 pacientes) y la expresión génica del transcriptoma completo se evaluó usando la secuenciación de ARN TruSeq® en 552 pacientes. Se usaron sondas Vysis LSI Dual Color Break Apart FISH Probes para identificar translocaciones de *BCL2* (n = 644 pacientes; valor de corte FISH, 50 %) y se usó el ensayo IHQ de uso en investigación de Ventana para evaluar la expresión de *BCL2* (clon de anticuerpo BCL2, 124); se definió IHQ BCL2+ como una tinción moderada/fuerte en un ≥ 50 % de células tumorales. Se usó la regresión multivariante de Cox y la regresión penalizada de red elástica ($\alpha=0,5$) para evaluar los efectos del tratamiento con biomarcadores. Además, se realizaron simulaciones de muestreo con reposición para identificar la LPS (LST de NanoString) óptima para reflejar la solidez del efecto del tratamiento observado en GOYA y la generalización del efecto del tratamiento en poblaciones de estudio independientes. Se realizó el ajuste de pruebas múltiples estimando TDF usando el procedimiento de Benjamini-Hochberg (significación, <5 % TDF). Se realizó el análisis de enriquecimiento de vías usando una prueba hipergeométrica; por enriquecimiento del conjunto de genes usando conjuntos de genes definidos por rasgos característicos de MSigDB y un conjunto de genes con rasgos característicos de mutación somática de LF en base a una recapitulación publicada recientemente. Todos los pacientes dieron su consentimiento para los análisis de biomarcadores.

Resultados

La evaluación de LPS como variable continua identificó un subgrupo de pacientes con BCG que se beneficiaron de G-CHOP. En particular, la fuerte expresión de un perfil de expresión génica del centro germinativo (por LPS) se vinculó con un beneficio en el resultado del tratamiento con G-CHOP frente a R-CHOP entre pacientes en GOYA. Las simulaciones de muestreo con reposición identificaron un valor de corte de LPS óptimo (≤ 725) para predecir el beneficio de G-CHOP como un 25 % (233/933) de pacientes de GOYA con las menores puntuaciones LPS. Estos pacientes se denominan en particular pacientes con 'BCG fuerte' y comprenden un 43 % (233/540) de los pacientes con BCG evaluables en GOYA. Los pacientes con BCG fuerte tratados con G-CHOP lograron resultados clínicos significativamente mejores en términos de supervivencia sin progresión evaluada por el investigador (CRI = 0,33, $p = 0,0007$), supervivencia sin sucesos (CRI = 0,47, $p = 0,003$) y supervivencia global (CRI=0,41, $p=0,019$) que los tratados con R-CHOP (véanse las figuras 10, 12; tabla 4). En los análisis multivariantes, el beneficio observado fue independiente de la demografía de referencia y las características de la enfermedad. La seguridad fue similar con cualquiera de las pautas. Se usaron datos de FOH, ARN TruSeq y IHQ/FISH BCL2 GOYA para la caracterización molecular de los pacientes con BCG fuerte. En los análisis de conjuntos de genes en los datos de FOH, en comparación con otros pacientes con BCG, los pacientes con BCG fuerte estaban significativamente enriquecidos en mutaciones que son características de pacientes con LF ("BCG débil": TDF, 3,54e-9). En particular, las translocaciones de *BCL2* y mutaciones en varios genes m7-FLIPI estaban altamente enriquecidas en pacientes con BCG fuerte frente a otros subgrupos de DLBGL (Figura 11). No existieron pruebas de LNH de escasa malignidad transformado en el subconjunto de BCG fuerte en la evaluación anatomopatológica central.

Conclusiones

Al analizar los datos del ensayo GOYA, se identificó un nuevo subgrupo clínica y molecularmente distinto de DLBGL BCG que comprende al menos alrededor de un 25 % de todos los pacientes con DLBGL, denominado "BCG fuerte". Este subgrupo distinto es identificable por perfiles de expresión génica (usando, por ejemplo, un valor de corte de LPS de ≤ 725 en el ensayo LST de Nanostring) y se caracteriza por mutaciones que también se identifican comúnmente en pacientes con LF (véase Morin *loc. cit.*). El tratamiento con G-CHOP confiere beneficio clínico sustancial sobre R-CHOP en este nuevo subconjunto de pacientes con DLBGL1L.

La presente invención se refiere a las siguientes secuencias nucleotídicas y de aminoácidos:

SEQ ID NO: 1:

Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada de obinutuzumab.

Polipéptido quimérico murino-humano.

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
 Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

SEQ ID NO: 2:

- 5 Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab, Polipéptido quimérico murino-humano

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 Arg Thr Val

- 10 SEQ ID NO: 3:

Secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada de obinutuzumab, ADN quimérico murino-humano

cagggtcaat tgggtcagtc tggcgctgaa gttaagaagc ctgggagttc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg ctccggata cgccttcagc tattcttgga tcaattgggt gcggcaggcg 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggacgg atctttcccg gcgatgggga tactgactac 180
 aatgggaaat tcaagggcag agtcacaatt accgccgaca aatccactag cacagcctat 240
 15 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagaaatgic 300
 ttgatgggtt actggcttgt ttactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctctca 357

SEQ ID NO: 4:

- 20 Secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab, ADN quimérico murino-humano.

gatatcgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gcccgccagc 60
 attagctgca ggtctagcaa gagcctcttg cacagcaatg gcatcactta ttgtattgg 120
 tacctgcaaa agccagggca gtctccacag ctctgattt atcaaattgc caacctgtc 180
 tcggcgctcc ctgaccggtt ctccgatcc gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
 agcaggggtg aggctgagga tgtggagtt tattactgcg ctcagaatct agaacttcct 300
 tacacctcg gccgagggac caaggtggag atcaaacgta cggtg 345

SEQ ID NO: 5:

5

Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de obinutuzumab. La región variable comprende las posiciones aminoacídicas 1 a 119.

QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYAFS YSWINWVRQA PGQGLEWMGR 50
 IFPGDGDY NGKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARNV 100
 FDGYWLVYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD 150
 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPVQLQSSG LYSLSVTV PSSLGTQTY 200
 ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHCTCP CPAPPELLGGP SVFLFPPKPK 250
 DTLISRTEP VTCVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS 300
 TYRVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV 350
 YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPV 400
 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVH HEALHNHYTQ KSLSLSPGK 449

10

SEQ ID NO: 6:

Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab. La región variable comprende las posiciones aminoacídicas 1 a 115.

15

DIVMTQTPLS LPVTPGEPAS ISCRSSKSLH HSNGITLYLW YLQKPGQSPQ 50'
 LLIIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDGVV YYCAQNLELP 100'
 YTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK 150'
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE 200'
 VTHQGLSPV TKSFNREGC 219'

SEQ ID NO: 7:

20

Secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada de obinutuzumab (B-HH6).

CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGCGCTGAAGTTAA
GAAGCCTGGGAGTTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGG
CTTCCGGATACGCCTTCAGCTATTCTTGGATCAATT
GGGTGCGGCAGGCGCCTGGACAAGGGCTCGAGTG
GATGGGACGGATCTTTCCCGGCGATGGGGATACTG
ACTACAATGGGAAATTCAAGGGCAGAGTCACAATT
ACCGCCGACAAATCCACTAGCACAGCCTATATGGA
GCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGT
ATTACTGTGCAAGAAATGTCTTTGATGGTTACTGGC
TGTTTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGGTCACCGTCT
CCTCA

SEQ ID NO: 8:

- 5 Secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab.

GATATCGTGATGACCCAGACTCCACTCTCCCTGCCC
GTCACCCCTGGAGAGCCCGCCAGCATTAGCTGCAG
GTCTAGCAAGAGCCTCTTGACACAGCAATGGCATCA
CTTATTTGTATTGGTACCTGCAAAAGCCAGGGCAG
TCTCCACAGCTCCTGATTTATCAAATGTCCAACCTT
GTCTCTGGCGTCCCTGACCGGTTCTCCGGATCCGGG
TCAGGCACTGATTTCACTGAAAATCAGCAGGGT
GGAGGCTGAGGATGTTGGAGTTTATTACTGCGCTC
AGAATCTAGAACTTCCTTACACCTTCGGCGGAGGG
ACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTG

SEQ ID NO: 9:

- 10 Secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de rituximab.

Rituximab heavy chain chimeric.
 QVQLQQPGAEIVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNRIHWKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDSY
 NQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGDNVFMVAGGTTVTS
 AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVHDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
 SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKAEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
 GPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFMYVDGVEVHNAKTKPREEQY
 NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
 ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWEISNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
 WQDGMVFSCSVHHEALHNHYTQKLSLSPGK

- 15 SEQ ID NO: 10:

Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de rituximab.

Rituximab light chain chimeric
 QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYTHWFQKPGSSPKPWYATSNLASGVPVR
 FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQWNTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
 DEQLKSGTASVVLNNFYPREAKVQWKNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLL
 SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5 SEQ ID NO:11:

Ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica CD58 de *Homo sapiens* (ser humano)

(variante 1).

10

```

1  gggecgccgg ctgccagccc agggcggggc ggagccctac ttctggccga ccggttaggc
61  ggtgottgaa cttagggctg cttgtggctg ggcactcgcg cagaggccgg cccgacgagc
121 catggttgct gggagcgacg cggggcgggc cctgggggtc ctccagcgtg tctgcctgct
181 gcaactgctt gggttcatca gctgttttcc ccaacaaata tatggtgttg tgtatgggaa
241 tgtaactttc catgtaccaa gcaatgtgcc tttaaaagag gtcctatgga aaaaacaaaa
301 ggataaagtt gcagaactgg aaaattctga attcagagct ttctcatctt ttaaaaatag
361 gggtttattta gacactgtgt caggtagcct cactatctac aacttaacat catcagatga
421 agatgagtat gaaatggaat cgccaaatat tactgatacc atgaagttct ttctttatgt
481 gcttgagtct ctccatctc ccacactaac ttgtgcattg actaatggaa gcattgaagt
541 ccaatgcatg ataccagagc attacaacag ccactcgagga cttataatgt actcatggga
601 ttgtcctatg gagcaatgta aacgttaact aaccagtata tattttaaga tggaaaatga
661 tcttccacaa aaaatacagt gtactcttag caatccatta ttaatacaa catcatcaat
721 cattttgaca aactgtatcc caagcagcgg tcattcaaga cacagatatg cacttatacc
781 cataccatta gcagtaatta caacatgtat tgtgctgtat atgaatggta ttctgaaatg
841 tgacagaaaa ccagacagaa ccaactccaa ttgattggta acagaagatg aagacaacag
901 cataactaaa ttatttttaa aactaaaaag ccatctgatt tctcatttga gtattacaat
961 ttttgaacaa ctgttggaat tgtaacttga agcagctgct ttaagaagaa ataccacta
1021 acaaagaaca agcattagtt ttggtgtgca tcaacttatt atatgactag gtgcttgctt
1081 tttttgtcag taaattgttt ttactgatga tgtagatact tttgtaaata aatgtaaata
1141 tgtacacaag tga
  
```

SEQ ID NO:12:

15

Ejemplo de una secuencia de aminoácidos de CD58 de *Homo sapiens* (ser humano) (isoforma 1).

```

1  mvagsdagra lgvlsvvcil hofgfiscfs qqiygvvygn vtfhvpsnvp lkevlwkkqk
61  dkvaelense frafssfknr vyldtvsgsl tiynltssde deyemespni tdtmkfflyv
121 leslpsptlt caltngsiev qcmipehyns hrglimyswd opmeqckrns tsiyfkmen
181 lpqkiqctls nplfnttssi ilttciptssg hsrhryalip iplavittci vlymngilkc
241 drkpdrtnsn
  
```

20 SEQ ID NO:13:

Ejemplo de una secuencia de nucleótidos que codifica BCL2 de *Homo sapiens* (ser humano)

(variante alfa).

25

```

1  tttctgtgaa gcagaagtct gggaatcgat ctggaaatcc tccaaatttt tactccctct
61  ccccgcgact cctgattcat tgggaagttt caaatcagct ataactggag agtgctgaag
121 attgatggga tcgttgccct atgcatttgt ttgggtttta caaaaaggaa acttgacaga
181 ggatcatgct gtaactaaaa aataacaacat cacagaggaa gtagactgat attaacaata
  
```

241 cttactaata ataacgtgcc tcatgaaata aagatccgaa aggaattgga ataaaaattt
 301 cctgcatctc atgccaaggg ggaacaccca gaatcaagtg ttccgcgtga ttgaagacac
 361 cccctcgtec aagaatgcaa agcacatcca ataaaatagc tggattataa ctccctctct
 421 ttctctgggg gccgtggggt gggagctggg gcgagaggtg ccgttggccc ccgttgcttt
 481 tcctctggga aggatggcgc acgctgggag aacaggggtac gataaccggg agatagtgat
 541 gaagtacatc cattataagc tgtcgcagag gggctacgag lgggatgcgg gagatgtggg
 601 cgccgcgccc ccggggggccg ccccccgcac gggcatcttc tectcccagc ccgggcacac
 661 gcccacatcca gccgcacccc gggaccgggt cgcacaggac tcgcgcgtgc agaccccggc
 721 tgcccccggc gccgcgcggg ggccctgcct cagcccggtg ccacctgtgg tccacctgac
 781 cctccgccag gccggcgacg acttctcccg ccgtacccgc cgcgacttcg ccgagatgtc
 841 cagccagctg cacctgacgc ccttcacgc gccgggacgc ttggccaagg tgggtggagga
 901 gctcttcagg gacgggggtga actgggggag gattgtggcc ttctttgagt tcggtggggg
 961 catgtgtgtg gagagcgctc accgggagat gtgcacctg gtggacaaca tcgccctgtg
 1021 gatgaactgag tacctgaacc ggcacctgca cacctggatc caggataacg gaggctggga
 1081 tgcctttgtg gaactgtacg gcccacgcat gcggcctctg ttggatttct cctggctgtc
 1141 tctgaagact ctgctcagtt tggccctggg gggagcttgc atcaccctgg gtgcttatct
 1201 gggccacaag tgaagtcaac atgcctgcc caaacaaala tgcaaaagg tcaactaaagc
 1261 agtagaaata atatgcattg tcagtgatgt accatgaaac aaagctgcag gctgtttaag
 1321 aaaaaataac acacatataa acatcacaca cacagacaga cacacacaca cacaacaatt
 1381 aacagtcttc aggcataacg tcgaatcagc tatttaactgc caaagggaat tatcatttat
 1441 tttttacatt attaaagaaa aaagatttat ttatttaaga cagtcccatc aaaactcctg
 1501 tctttggaaa tccgaccact aattgccaaag caccgcttcg tgtggctcca cctggatgtt
 1561 ctgtgcctgt aaacatagat tcgctttcca tgttgttggc cggatcacca tctgaagagc
 1621 agacggatgg aaaaaggacc tgatcattgg ggaagctggc tttctggctg ctggaggctg
 1681 gggagaagggt gttcattoac ttgcatttct ttgcctggg ggcgtgtgata ttaacagagg
 1741 gagggttcct gtggggggaa gtccatgcct ccctggcctg aagaagagac tctttgcata
 1801 tgactcacat gatgcatacc tgggtgggag aaaagagttg ggaacttcag atggaacctag
 1861 taccactga gatttcacg ccgaaggaca gcgatgggaa aatgcccctt aaatcatagg
 1921 aaagtatttt ttttagctac caattgtgac gagaaaagca ttttagcaat ttatacaata
 1981 tcatccagta ccttaagccc tgattgtgta tattcatata ttttggatac gcacccccca

2041 actcccaata ctggctctgt ctgagtaaga aacagaatcc tctggaactt gaggaagtga
 2101 acatttcggt gacttccgca tcagggaaggc tagagttacc cagagcatca ggccgccaca
 2161 agtgccctgct tttaggagac cgaagtcggc agaacctgcc tgtgtccag ctltggaggcc
 2221 tggctcctgga actgagccgg gccctcact ggctcctcc agggatgatc aacagggcag
 2281 tgtggtctcc gaatgtctgg aagctgatgg agctcagaat tccactgtca agaaagagca
 2341 gtagaggggt gtggctgggc ctgtcaccct ggggccctcc aggtaggccc gttttcacgt
 2401 ggagcatggg agccacgacc cttcttaaga catgtatcac tgtagaggga aggaacagag
 2461 gccctgggccc cttcctatca gaaggacatg gtgaaggctg ggaacgtgag gagaggcaat
 2521 ggccacggcc ctttttggct gtagcacatg gcacgttggc tgtgtggcct tggccacact
 2581 gtgagtttaa agcaaggctt taaatgactt tggagagggt cacaatcct aaaagaagca
 2641 ttgaagttag gtgtcatgga ttaattgacc cctgtctatg gaattacatg taaaacatta
 2701 tcttgtcact gtagtttgg tttatttgaa aacctgacaa aaaaaaagt ccaggtgtgg
 2761 aatatggggg tttctgttac atcctggggc attaaaaaaa aaatcaatgg tggggaacta
 2821 taaagaagta acaaaagaag tgacatcttc agcaataaaa ctaggaaatt ttttttctt
 2881 ccagtttaga atcagccttg aaacattgat ggaataactc tgtggcatta ttgcattata
 2941 taccatttat ctgtattaac tttggaatgt actctgttca atgtttaatg ctgtggttga
 3001 tatttcgaaa gctgctttaa aaaaatacat gcatctcagc gttttttgt ttttaattgt
 3061 atttagttat ggcctataca ctatttgtga gcaagggtga tctgtttctg tttgagattt
 3121 ttatctcttg attcttcaaa agcattctga gaaggtaga taagccctga gtctcagcta
 3181 cctaagaaaa acctggatgt cactggccac tgaggagctt tgtttcaacc aagtcatgtg
 3241 cattttccacg tcaacagaaat tgtttattgt gacagtata totgttgtcc ctttgacctt
 3301 gtttcttgaa ggtttcctcg tccctgggca attccgcatt taattcatgg tattcaggat
 3361 tacatgcatg tttggttaaa cccatgagat tcattcagtt aaaaatccag atggcaaatg
 3421 accagcagat tcaaatctat ggtggttga cctttagaga gttgctttac gtggcctgtt
 3481 tcaacacaga cccaccaga gccctcctgc cctcctccg cgggggcttt ctcatggctg
 3541 tcttccaggg tcttccgaa atgcagtggg gcttacgctc caccaagaaa gcaggaaacc
 3601 tgtggtatga agccagacct ccccggggg cctcaggga cagaatgatc agacctttga
 3661 atgattctaa tttttaagca aaatattatt ttatgaaagg tttacattgt caaagtgatg
 3721 aatatggaat atccaatcct gtgctgctat cctgccaaaa tcattttaat ggagtcagtt
 3781 tgcagtatgc tccacgtggt aagatcctcc aagctgcttt agaagtaaca atgaagaacg
 3841 tggacgtttt taatataaag cctgttttgt cttttgttgt tgttcaaacg ggattcacag
 3901 agtatttgaa aaatgtatat atattaagag gtccaggggg ctaattgctg gctggctgcc
 3961 tttgtctgtg gggttttgtt acctggtttt aataacagta aatgtgccca gctcttggc
 4021 cccagaactg tacaglattg tggctgcact tgccttaaga gtagttagt tgcattttc
 4081 cttattgcta aaaacatggt agaagcaatg aatgtatata aaagcctca ctagtcatlt
 4141 tttctcctc tttctttttt tcatktatct taattatttt gcagttgggc aacagagaac
 4201 catccctatt ttgtattgaa gagggattca catctgcac ttaactgctc tttatgaatg
 4261 aaaaaacagt cctctgtatg tactcctctt tacactggcc agggtcagag ttaaatagag
 4321 tatatgcact tcccaaattg gggacaaggg ctctaaaaaa agccccaaaa gggaagaac
 4381 atctgagaac ctctcggcc ctcccagtc ctgctgcac aaactcctc caagagaggc
 4441 cagaatgaca gctgacaggg tctatggcca tgggtcgtc tccgaagatt tggcaggggc
 4501 agaaaactct ggcaggctta agatttgga taaagtcaca gaattaagga agcacctcae
 4561 tttagttcaa acaagacgcc aacattctct ccacagctca ctacctctc tgtgtccaga
 4621 tgtggccttc catttatatg tgatctttgt tttattagta aatgcttctc atctaaagat
 4681 gtagctcctg cccagtggga aaaattagga agtgattata aatcgagagg agttataata
 4741 atcaagatta aatgtaaaaa atcagggcaa tcccaacaca tgtotagctt tcacctccag
 4801 gatctattga gtgaacagaa ttgcaaatag tctctatttg taattgaact tatcctaaaa
 4861 caaatagltt ataaatgtga acttaactc taattaattc caactgtact ttttaaggcag
 4921 tggctgtttt tagactttct tatcacttat agttagtaat gtacacctac tctatcagag
 4981 aaaaacagga aaggctcgaa atacaagcca ctotaaggaa attagggagt cagttgaaat
 5041 tctattctga tcttattctg tgggtctttt tgcagcccag acaaagtgtg ttacacactt
 5101 tttaaagaaat acaattctac attgtcaagg ttatgaagg tccaatcaga tctttattgt
 5161 tattcaattt ggaattttca gggatttttt ttttaaat tttatgggaca aaggacattt
 5221 gttggagggg tgggaggag gaagaatttt taaatgtaaa acattcccaa gtttgatca
 5281 gggagtggga agttttcaga ataaccagaa ctaagggtat gaaggacctg tattggggtc
 5341 gatgtgatgc ctctgcgaag aacctgtgtg gacaaatgag aaacattttg aagtttgtgg
 5401 tccgaccttt agattccaga gacatcagca tggctcaaag tgcagctccg tttggcagtg
 5461 caatgggtata aatttcaagc tggatatgtc taatgggtat ttaaacata aatgtgcagt
 5521 ttttaactaac aggatattca atgacaacct tctgggtggg agggacatct gtttctaaat


```

5581 gtttattatg tacaatacag aaaaaaattt tataaaatta agcaatgtga aactgaattg
5641 gagagtgata atacaagtc tttagtotta cccagtgaat cattctgttc catgtctttg
5701 gacaaccatg acottggaca atcatgaaat atgcatctca ctggatgcaa agaaaatcag
5761 atggagcatg aatggtaactg tacoggttca tctggactgc cccagaaaaa taacttcaag
5821 caaacatcct atcaacaaca aggttgttct gcataccaag ctgagcacag aagatgggaa
5881 cactggtgga ggatggaaag gctcgtcaa tcaagaaaat tctgagacta ttaataaata
5941 agactgtagt gtagatactg agtaaataca tgcacctaaa ccttttggaa aatctgccgt
6001 gggeccctca gatagctcat ttcatataag tttccctcc aaggtagaat ttgcaagagt
6061 gacagtggat tgcatttctt ttggggaagc tttcttttgg tggttttgtt tattatacct
6121 tctcaagttt tcaaccaagg tttgtttttg ttttgagtta ctgggggttat ttttgtttta
6181 aataaaaaata agtgtaaat aagtgttttt gtattgaaag cttttgttat caagattttc
6241 ataattttac cttccatggc cttttttaag attgatactt tcaagagggtg gctgatattc
6301 tgaacaactg tacaataaa aaatacggta aggatacttt acatgggtta ggtaaagtaa
6361 gtctccagtt ggccaccatt agctataatg gcactttgtt tgtgttgttg gaaaaagtca
6421 cattgccatt aaactttcct tgtctgtcta gttaatattg tgaagaaaaa taaagtacag
6481 tgtgagatac tg

```

SEQ ID NO14:

- 5 Ejemplo de una secuencia de aminoácidos de BCL2 de *Homo sapiens* (ser humano)

(isoforma alfa).

```

1 mahagrtgyd nreivmkyih yklsqrgyew dagdvgaapp gaapapgifs sqpghtphpa
61 asrdpvarst plqtpaapga aagpalspvp pvvhltrqa gddfsrrryrr dfaemssqlh
121 ltpftargrf atvveelfrd gvnwgrivaf fefggvmcve svnremsplv dnialwmtcy
181 lnrlhtwliq dnggwdaive lygpsmrplf dfswlslktl lslalvgaci tlqaylghk

```

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> F. Hoffmann-La Roche AG
 NanoString Technologies, Inc.
 <120> Tratamiento con obinutuzumab de un subgrupo de pacientes con DLBG novedoso
 <130> AA1470 PCT S3
 10 <150> US62/542.489
 <151> 08/08/2017
 <160> 14
 15 <170> BiSSAP 1.3
 <210> 1
 <211> 119
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> La región variable de la cadena pesada de obinutuzumab; polipéptido quimérico murino-humano
 25 <400> 1
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
 20 25 30
 Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 2
 <211> 115
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> La región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab; polipéptido quimérico murino-humano
 35 <400> 2
 Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
 20 25 30
 Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
 85 90 95
 Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val
 115

- 5 <210> 3
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
 <223> Secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada de obinutuzumab; ADN quimérico murino-humano
- <400> 3
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggcgctgaa gttaagaagc ctgggagttc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttccggata cgccttcagc tattcttgga tcaattgggt gcggcaggcg 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggacgg atctttcccg gcgatgggga tactgactac 180
 aatgggaaat tcaagggcag agtcacaatt accgccgaca aatccactag cacagcctat 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagaaatgtc 300
 tttgatgggtt actggcttgt ttactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctctca 357
- 15 <210> 4
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
 <223> secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab; ADN quimérico murino-humano
- <400> 4
 gatatcgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gcccgccagc 60
 attagctgca ggtctagcaa gagcctcttg cacagcaatg gcatcactta tttgtattgg 120
 tacctgcaaa agccagggca gtctccacag ctcttgattt atcaaatgtc caaccttgtc 180
 tctggcgctcc ctgaccggtt ctccggatcc gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
 agcaggggtgg aggctgagga tgttggagtt tattactgcg ctcagaatct agaacttcct 300
 tacaccttcg gcggagggac caaggtggag atcaaacgta cgggtg 345
- 25 <210> 5
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
 <223> la cadena pesada de obinutuzumab
- 35 <400> 5
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1	5	10	15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser			
20	25	30	
Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe			
50	55	60	
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr			
65	70	75	80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly			
100	105	110	
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
115	120	125	
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
130	135	140	
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
165	170	175	
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
180	185	190	
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
195	200	205	
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
210	215	220	
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
245	250	255	
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
260	265	270	
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
325	330	335	
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
370	375	380	
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
405	410	415	
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
420	425	430	
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly			
435	440	445	

Lys

<210> 6
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> la cadena ligera KV1 de obinutuzumab

<400> 6

```

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1      5      10      15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20     25     30
Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35     40     45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
50     55     60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65     70     75     80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn
85     90     95
Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100    105    110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115    120    125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130    135    140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145    150    155    160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165    170    175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180    185    190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195    200    205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210    215

```

5

<210> 7

<211> 357

<212> ADN

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena pesada de obinutuzumab (B-HH6)

15

<400> 7

```

caggtgcaat tgggtgcagtc tggcgctgaa gttaagaagc ctgggagttc agtgaaggtc      60
tcctgcaagg ctcccgata cgccttcagc tattcttgga tcaattgggt gcggcaggcg      120
cctggacaag ggctcgagt gatgggacgg atctttcccg gcgatgggga tactgactac      180
aatgggaaat tcaagggcag agtcacaatt accgccgaca aatccactag cacagcctat      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagaaatgtc      300
tttgatggtt actggcttgt ttactggggc caggggaacc tggtcaccgt ctctca      357

```

<210> 8

<211> 345

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

20

<220>

<223> secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab

25

```

<400> 8
gatatcgtga tgaccagac tccactctcc ctgccgtca cccctggaga gcccgccagc      60

attagctgca ggtctagcaa gagcctcttg cacagcaatg gcatcactta tttgtattgg      120

tacctgcaaa agccagggca gtctccacag ctccctgattt atcaaatgtc caaccttgtc      180

tctggcgctcc ctgaccgggtt ctccggatcc gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc      240

agcaggggtgg aggctgagga tgttggagtt tattactgcg ctgagaatct agaacttcct      300

tacaccttcg gcggaggggac caaggtggag atcaaacgta cgggtg                    345

```

```

<210> 9
<211> 451
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

```

```

<220>
10 <223> la cadena pesada de rituximab

```

```

<400> 9
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1      5      10      15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20      25      30
Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35      40      45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe
50      55      60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
100     105     110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115     120     125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130     135     140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145     150     155     160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165     170     175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180     185     190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195     200     205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys
210     215     220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225     230     235     240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245     250     255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260     265     270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275     280     285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290     295     300

```

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450

<210> 10
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> la cadena ligera de rituximab

<400> 10
 Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile
 20 25 30
 His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr
 35 40 45
 Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 11
 <211> 1153
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

```

<400> 11
gggcccgcgg ctgccagccc agggcggggc ggagccctac ttctggccga ccgcgtaggc      60

ggtgcttgaa cttagggctg cttgtggctg ggcactcgcg cagaggccgg cccgacgagc      120

catggttgct gggagcgacg cggggcgggc cctgggggtc ctcagcgtgg tctgcctgct      180

gcaactgcttt ggtttcatca gctgtttttc ccaacaaata tatggtgttg tgtatgggaa      240

tgtaactttc catgtaccaa gcaatgtgcc tttaaaagag gtcctatgga aaaaacaaaa      300

ggataaagtt gcagaactgg aaaattctga attcagagct ttctcatctt ttaaaaatag      360

ggtttattta gacactgtgt caggtagcct cactatctac aacttaacat catcagatga      420

agatgagtat gaaatggaat cgccaaatat tactgatacc atgaagttct ttctttatgt      480

gcttgagtct cttccatctc ccacactaac ttgtgcattg actaatggaa gcattgaagt      540

ccaatgcatg ataccagagc attacaacag ccatcgagga cttataatgt actcatggga      600

ttgtcctatg gagcaatgta aacgtaactc aaccagtata tattttaaga tggaaaatga      660

tcttccacaa aaaatacagt gtactcttag caatccatta ttttaatacaa catcatcaat      720

cattttgaca acctgtatcc caagcagcgg tcattcaaga cacagatatg cacttatacc      780

cataccatta gcagtaatta caacatgtat tgtgctgtat atgaatggta ttctgaaatg      840

tgacagaaaa ccagacagaa ccaactccaa ttgattggta acagaagatg aagacaacag      900

cataactaaa ttattttaaa aactaaaaag ccatctgatt tctcatttga gtattacaat      960

ttttgaacaa ctgttggaaa tgtaacttga agcagctgct ttaagaagaa ataccacta     1020

acaaagaaca agcattagtt ttggctgtca tcaacttatt atatgactag gtgcttgctt     1080

tttttgtcag taaattgttt ttactgatga tgtagatact tttgtaaata aatgtaaata     1140

tgtacacaag tga                                                                1153

```

```

5  <210> 12
   <211> 250
   <212> PRT
   <213> Homo sapiens

```

```

10 <400> 12
Met Val Ala Gly Ser Asp Ala Gly Arg Ala Leu Gly Val Leu Ser Val
1      5      10      15
Val Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser Gln Gln
20     25     30
Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His Val Pro Ser Asn
35     40     45
Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys Asp Lys Val Ala
50     55     60
Glu Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys Asn Arg
65     70     75     80
Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile Tyr Asn Leu Thr
85     90     95
Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro Asn Ile Thr Asp
100    105    110

```

```

Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu Glu Ser Leu Pro Ser Pro Thr
    115                      120                      125
Leu Thr Cys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Ile Glu Val Gln Cys Met Ile
    130                      135                      140
Pro Glu His Tyr Asn Ser His Arg Gly Leu Ile Met Tyr Ser Trp Asp
    145                      150                      155                      160
Cys Pro Met Glu Gln Cys Lys Arg Asn Ser Thr Ser Ile Tyr Phe Lys
                      165                      170                      175
Met Glu Asn Asp Leu Pro Gln Lys Ile Gln Cys Thr Leu Ser Asn Pro
    180                      185                      190
Leu Phe Asn Thr Thr Ser Ser Ile Ile Leu Thr Thr Cys Ile Pro Ser
    195                      200                      205
Ser Gly His Ser Arg His Arg Tyr Ala Leu Ile Pro Ile Pro Leu Ala
    210                      215                      220
Val Ile Thr Thr Cys Ile Val Leu Tyr Met Asn Gly Ile Leu Lys Cys
    225                      230                      235                      240
Asp Arg Lys Pro Asp Arg Thr Asn Ser Asn
                      245                      250

```

```

<210> 13
<211> 6492
<212> ADN
<213> Homo sapiens

```

5

```

<400> 13
tttctgtgaa gcagaagtct gggaatcgat ctggaaatcc tcctaatttt tactccctct      60
ccccgcgact cctgattcat tgggaagttt caaatcagct ataactggag agtgctgaag      120
attgatggga tcgttgccctt atgcatttgt tttggtttta caaaaaggaa acttgacaga      180
ggatcatgct gtacttaaaa aatacaacat cacagaggaa gtagactgat attaacaata      240
cttactaata ataacgtgcc tcatgaaata aagatccgaa aggaattgga ataaaaattt      300
cctgcatctc atgccaaggg ggaaacacca gaatcaagtg ttccgcgtga ttgaagacac      360
cccctcgtcc aagaatgcaa agcacatcca ataaaatagc tggattataa ctcctcttct      420
ttctctgggg gccgtggggt gggagctggg gcgagaggtg ccgttgggcc ccgttgcttt      480
tcctctggga aggatggcgc acgctgggag aacagggtac gataaccggg agatagtgat      540
gaagtacatc cattataagc tgtcgcagag gggctacgag tgggatgcgg gagatgtggg      600
cgccgcgccc ccggggggccg cccccgcacc gggcatcttc tcctcccagc ccgggcacac      660
gccccatcca gccgcatccc gggaccgggt cgccaggacc tcgccgctgc agaccccggc      720
tgcccccggc gccgccgcgg ggcctgcgct cagcccggtg ccacctgtgg tccacctgac      780
cctccgccag gccggcgacg acttctcccg ccgctaccgc cgcgacttcg ccgagatgtc      840
cagccagctg cacctgacgc ccttcaccgc gcggggacgc tttgccacgg tgggtggagga      900
gctcttcagg gacgggggtga actggggggag gattgtggcc ttctttgagt tcggtggggt      960
catgtgtgtg gagagcgtca accggggagat gtcgcccctg gtggacaaca tcgccctgtg     1020
gatgactgag tacctgaacc ggcacctgca cacctggatc caggataacg gaggctggga     1080
tgcccttgtg gaactgtacg gccccagcat gcggcctctg tttgatttct cctggctgtc     1140

```

tctgaagact	ctgctcagtt	tggccctggt	gggagcttgc	atcacccctgg	gtgcctatct	1200
gggccacaag	tgaagtcaac	atgcctgccc	caaacaaata	tgcaaaaggt	tcactaaagc	1260
agtagaaata	atatgcattg	tcagtgatgt	accatgaaac	aaagctgcag	gctgtttaag	1320
aaaaaataac	acacatataa	acatcacaca	cacagacaga	cacacacaca	cacaacaatt	1380
aacagtcttc	aggcaaaacg	tcgaatcagc	tatttactgc	caaagggaaa	tatcatttat	1440
tttttacatt	attaagaaaa	aaagatttat	ttatttaaga	cagtcccatc	aaaactcctg	1500
tcttttgaaa	tccgaccact	aattgccaaag	caccgcttcg	tgtggctcca	cctggatgtt	1560
ctgtgcctgt	aaacatagat	tcgctttcca	tgttggtggc	cggatcacca	tctgaagagc	1620
agacggatgg	aaaaaggacc	tgatcattgg	ggaagctggc	tttctggctg	ctggaggctg	1680
gggagaaggt	gttcattcac	ttgcatttct	ttgccctggg	ggctgtgata	ttaacagagg	1740
gagggttcct	gtggggggaa	gtccatgcct	ccctggcctg	aagaagagac	tctttgcata	1800
tgactcacat	gatgcatacc	tgggtgggagg	aaaagagttg	ggaacttcag	atggacctag	1860
taccactga	gatttccacg	ccgaaggaca	gcgatgggaa	aaatgccctt	aatcatagg	1920
aaagtatttt	tttaagctac	caattgtgcc	gagaaaagca	ttttagcaat	ttatacaata	1980
tcattccagta	ccttaagccc	tgattgtgta	tattcatata	ttttggatac	gcacccccca	2040
actcccaata	ctggctctgt	ctgagtaaga	aacagaatcc	tctggaactt	gaggaagtga	2100
acatttcggg	gacttccgca	tcaggaaggc	tagagttacc	cagagcatca	ggccgccaca	2160
agtgcctgct	tttaggagac	cgaagtccgc	agaacctgcc	tgtgtcccag	cttgagggcc	2220
tggctcctgga	actgagccgg	ggccctcact	ggcctcctcc	agggatgatc	aacagggcag	2280
tgtggtctcc	gaatgtctgg	aagctgatgg	agctcagaat	tccactgtca	agaaagagca	2340
gtagaggggt	gtggctgggc	ctgtcacccct	ggggccctcc	aggtaggccc	gttttcacgt	2400
ggagcatggg	agccacgacc	cttcttaaga	catgtatcac	tgtagaggga	aggaacagag	2460
gccctggggc	cttcctatca	gaaggacatg	gtgaaggctg	ggaacgtgag	gagaggcaat	2520
ggccacggcc	cattttggct	gtagcacatg	gcacgttggc	tgtgtggcct	tggcccacct	2580
gtgagtttaa	agcaaggctt	taaatgactt	tggagagggt	cacaaatcct	aaaagaagca	2640
ttgaagtgag	gtgtcatgga	ttaattgacc	cctgtctatg	gaattacatg	taaaacatta	2700
tcttgtcact	gtagtttggt	tttatttgaa	aacctgacaa	aaaaaaagtt	ccaggtgtgg	2760
aatatggggg	ttatctgtac	atcctggggc	attaaaaaaa	aatcaatgg	tggggaacta	2820
taaagaagta	acaaaagaag	tgacatcttc	agcaaataaa	ctaggaaatt	tttttttctt	2880
ccagtttaga	atcagccttg	aaacattgat	ggaataactc	tgtggcatta	ttgcattata	2940
taccatttat	ctgtattaac	tttggaatgt	actctgttca	atgtttaatg	ctgtggttga	3000
tatttcgaaa	gctgctttaa	aaaaatacat	gcattctcagc	gtttttttgt	ttttaattgt	3060

atttagttat	ggcctataca	ctatattgtga	gcaaaggtga	tcgttttctg	tttgagattt	3120
ttatctcttg	attcttcaaa	agcattctga	gaaggtgaga	taagccctga	gtctcagcta	3180
cctaagaaaa	acctggatgt	cactggccac	tgaggagctt	tgtttcaacc	aagtcagtgt	3240
catttccacg	tcaacagaat	tgtttattgt	gacagttata	tctgttgccc	ctttgacctt	3300
gtttcttgaa	ggtttcctcg	tccctgggca	attccgcatt	taattcatgg	tattcaggat	3360
tacatgcatg	tttggttaaa	cccatgagat	tcattcagtt	aaaaatccag	atggcaaagt	3420
accagcagat	tcaaatctat	ggtggtttga	ccttttagaga	gttgctttac	gtggcctgtt	3480
tcaacacaga	cccaccaga	gccctcctgc	cctccttccg	cgggggcttt	ctcatggctg	3540
tccttcaggg	tcttcctgaa	atgcagtggg	gcttacgctc	caccaagaaa	gcaggaaacc	3600
tgtggtatga	agccagacct	ccccggcggg	cctcagggaa	cagaatgatc	agacctttga	3660
atgattctaa	tttttaagca	aaatattatt	ttatgaaagg	tttacattgt	caaagtgatg	3720
aatatggaat	atccaatcct	gtgctgctat	cctgccaaaa	tcattttaat	ggagtcagtt	3780
tgcagtatgc	tccacgtggg	aagatcctcc	aagctgcttt	agaagtaaca	atgaagaacg	3840
tggacgtttt	taatataaag	cctgttttgt	cttttgttgt	tgttcaaacg	ggattcacag	3900
agtatttgaa	aaatgtatat	atattaagag	gtcacggggg	ctaattgctg	gctggctgcc	3960
ttttgctgtg	gggttttgtt	acctggtttt	aataacagta	aatgtgccc	gcctcttggc	4020
cccagaactg	tacagtattg	tggtgcact	tgctctaaga	gtagttgatg	ttgcattttc	4080
cttattgtta	aaaacatgtt	agaagcaatg	aatgtatata	aaagcctcaa	ctagtcattt	4140
ttttctctc	ttcttttttt	tcattatatc	taattatttt	gcagttgggc	aacagagaac	4200
catccctatt	ttgtattgaa	gagggattca	catctgcac	ttaactgctc	tttatgaatg	4260
aaaaaacagt	cctctgtatg	tactcctctt	tacactggcc	agggtcagag	ttaaataagag	4320
tatatgcact	ttccaaattg	gggacaaggg	ctctaaaaaa	agccccaaaa	ggagaagaac	4380
atctgagaac	ctcctcggcc	ctcccagtcc	ctcgtgcac	aaatactccg	caagagaggc	4440
cagaatgaca	gctgacaggg	tctatggcca	tcgggtcgtc	tccgaagatt	tggcaggggc	4500
agaaaactct	ggcaggctta	agatttggaa	taaagtcaca	gaattaagga	agcacctcaa	4560
tttagttcaa	acaagacgcc	aacattctct	ccacagctca	cttacctctc	tgtgttcaga	4620
tgtggccttc	catttatatg	tgatctttgt	tttattagta	aatgcttatc	atctaaagat	4680
gtagctctgg	cccagtggga	aaaattagga	agtgattata	aatcgagagg	agttataata	4740
atcaagatta	aatgtaaata	atcagggcaa	tccaacaca	tgtctagctt	tcacctccag	4800
gatctattga	gtgaacagaa	ttgcaaatag	tctctatttg	taattgaact	tatcctaaaa	4860
caaatagttt	ataaatgtga	acttaaactc	taattaattc	caactgtact	tttaaggcag	4920

ES 2 933 256 T3

```

tggctgtttt tagactttct tatcacttat agttagtaat gtacacctac tctatcagag      4980
aaaaacagga aaggtcga atacaagcca ttctaaggaa attagggagt cagttgaaat      5040
tctattctga tcttattctg tgggtgtcttt tgcagcccag acaaattgtg ttacacactt      5100
tttaagaaat acaattctac attgtcaagc ttatgaaggt tccaatcaga tctttattgt      5160
tattcaattt ggatctttca gggatttttt ttttaaatta ttatgggaca aaggacattt      5220
gttggagggg tgggagggag gaagaatttt taaatgtaaa acattcccaa gtttggatca      5280
gggagttgga agttttcaga ataaccagaa ctaaggggat gaaggacctg tattggggtc      5340
gatgtgatgc ctctgcgaag aaccttgtgt gacaaatgag aaacattttg aagtttgttg      5400
tacgaccttt agattccaga gacatcagca tggctcaaag tgcagctccg tttggcagtg      5460
caatggtata aatttcaagc tggatatgtc taatgggtat ttaaacaata aatgtgcagt      5520
tttaactaac aggatattta atgacaacct tctggttggg agggacatct gtttctaaat      5580
gtttattatg tacaatacag aaaaaattt tataaaatta agcaatgtga aactgaattg      5640
gagagtgata atacaagtcc tttagtctta cccagtgaat cattctgttc catgtctttg      5700
gacaacctatg accttggaca atcatgaaat atgcatctca ctggatgcaa agaaaatcag      5760
atggagcatg aatggtactg taccggttca tctggactgc cccagaaaaa taacttcaag      5820
caaacatcct atcaacaaca aggttgttct gcataccaag ctgagcacag aagatgggaa      5880
cactggtgga ggatggaaag gctcgtcaa tcaagaaaat tctgagacta ttaataaata      5940
agactgtagt gtagatactg agtaaatacca tgcacctaaa ctttttgga aatctgccgt      6000
gggccctcca gatagctcat ttcattaaagt tttccctcc aaggtagaat ttgcaagagt      6060
gacagtggat tgcatttctt ttggggaagc tttcttttg tggttttgtt tattatacct      6120
tcttaagttt tcaaccaagg tttgcttttg ttttgagtta ctgggggttat ttttgtttta      6180
aataaaaata agtgtacaat aagtgttttt gtattgaaag cttttgttat caagattttc      6240
atacttttac cttccatggc tctttttaag attgatactt ttaagaggtg gctgatattc      6300
tgcaacactg tacacataaa aaatacggta aggatacttt acatgggttaa ggtaaagtaa      6360
gtctccagtt ggccaccatt agctataatg gcactttgtt tgtgttgttg gaaaaagtca      6420
cattgccatt aaactttcct tgtctgtcta gttaatattg tgaagaaaaa taaagtacag      6480
tgtgagatac tg      6492

```

<210> 14
 <211> 239
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 14
 Met Ala His Ala Gly Arg Thr Gly Tyr Asp Asn Arg Glu Ile Val Met
 1 5 10 15

ES 2 933 256 T3

Lys	Tyr	Ile	His	Tyr	Lys	Leu	Ser	Gln	Arg	Gly	Tyr	Glu	Trp	Asp	Ala		
			20					25					30				
Gly	Asp	Val	Gly	Ala	Ala	Pro	Pro	Gly	Ala	Ala	Pro	Ala	Pro	Gly	Ile		
		35					40					45					
Phe	Ser	Ser	Gln	Pro	Gly	His	Thr	Pro	His	Pro	Ala	Ala	Ser	Arg	Asp		
		50				55					60						
Pro	Val	Ala	Arg	Thr	Ser	Pro	Leu	Gln	Thr	Pro	Ala	Ala	Pro	Gly	Ala		
65					70					75					80		
Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Leu	Ser	Pro	Val	Pro	Pro	Val	Val	His	Leu	Thr		
				85					90					95			
Leu	Arg	Gln	Ala	Gly	Asp	Asp	Phe	Ser	Arg	Arg	Tyr	Arg	Arg	Asp	Phe		
			100					105						110			
Ala	Glu	Met	Ser	Ser	Gln	Leu	His	Leu	Thr	Pro	Phe	Thr	Ala	Arg	Gly		
		115					120					125					
Arg	Phe	Ala	Thr	Val	Val	Glu	Glu	Leu	Phe	Arg	Asp	Gly	Val	Asn	Trp		
		130				135					140						
Gly	Arg	Ile	Val	Ala	Phe	Phe	Glu	Phe	Gly	Gly	Val	Met	Cys	Val	Glu		
145					150					155					160		
Ser	Val	Asn	Arg	Glu	Met	Ser	Pro	Leu	Val	Asp	Asn	Ile	Ala	Leu	Trp		
				165					170					175			
Met	Thr	Glu	Tyr	Leu	Asn	Arg	His	Leu	His	Thr	Trp	Ile	Gln	Asp	Asn		
			180					185					190				
Gly	Gly	Trp	Asp	Ala	Phe	Val	Glu	Leu	Tyr	Gly	Pro	Ser	Met	Arg	Pro		
		195					200					205					
Leu	Phe	Asp	Phe	Ser	Trp	Leu	Ser	Leu	Lys	Thr	Leu	Leu	Ser	Leu	Ala		
	210					215					220						
Leu	Val	Gly	Ala	Cys	Ile	Thr	Leu	Gly	Ala	Tyr	Leu	Gly	His	Lys			
225					230					235							

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-CD20 de tipo II humanizado que comprende

(a) una región variable de la cadena pesada como se representa en SEQ ID NO:1 o como se comprende en SEQ ID NO:5 (residuos aminoácidos 1 a 119) y una región variable de la cadena ligera como se representa en SEQ ID NO:2 o como se comprende en SEQ ID NO:6 (residuos aminoácidos 1 a 115); o

(b) una región variable de la cadena pesada que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:7 y una región variable de la cadena ligera que se codifica por una secuencia de ácido nucleico que es al menos un 80 % idéntica a SEQ ID NO:4 o SEQ ID NO:8,

en el que dicho anticuerpo puede provocar un incremento en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) en comparación con rituximab, puede provocar un incremento en la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) en comparación con rituximab y/o tiene un incremento en la afinidad por los receptores FcγRIII en comparación con rituximab,

para su uso en el tratamiento de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBGL) en un paciente que responde a un tratamiento con obinutuzumab alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab, en el que dicho paciente es

(i) un paciente con una o más mutaciones en uno o más de los genes seleccionados del grupo que consiste en *CREBBP*, *EP300*, *MEF2B*, *MYC*, *EZH2* y *TNFRSF14*;

(ii) un paciente con (una) mutación/mutaciones genética(s) en *CD58* y/o con una baja expresión de *CD58* que corresponde a $\log_2(\text{lecturas normalizadas por kilobase por millón (nRPKM)}) \leq 5,2$;

(iii) un paciente con un subtipo de célula de origen (CDO) de DLBGL que es DLBGL similar a linfocitos B del centro germinativo (BCG) como se define por una puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) <1141 (DLBGL BCG fuerte); y/o

(iv) un paciente con DLBGL con *BCL2* translocada y/o un paciente con DLBGL con alta expresión de *BCL2* en el que un ≥ 50 % de las células tumorales expresan *BCL2*.

2. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho resultado clínico es supervivencia sin progresión (SSP), supervivencia global (SG) y/o supervivencia sin sucesos (SSS).

3. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que dicho paciente es:

(i) un paciente como se define en la reivindicación 1(i); y

(ii) un paciente como se define en la reivindicación 1(ii).

4. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en particular de acuerdo con la reivindicación 3(i), en el que dicho paciente es

(i) un paciente como se define en la reivindicación 1(iii); y

(ii) un paciente como se define en la reivindicación 1(iv).

5. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en particular de acuerdo con la reivindicación 1(iii) o 4(i), en el que dicho paciente se identifica determinando la expresión de un conjunto de genes que comprende uno, más o todos los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1*, y *CCDC50*; y *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1*, y *S1PR2*.

6. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 4(i) o 5, en el que dicho paciente con DLBGL BCG fuerte es un paciente que tiene un tumor con una expresión ponderada de un conjunto de genes que comprende uno, más o todos los genes *TNFRSF13B*, *LIMD1*, *IRF4*, *CREB3L2*, *PIM2*, *CYB5R2*, *RAB7L1* y *CCDC50*; y *MME*, *SERPINA9*, *ASB13*, *MAML3*, *ITPKB*, *MYBL1* y *S1PR2*, lo que da como resultado una puntuación de factor pronóstico lineal (LPS) < 1141.

7. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en el que dicho conjunto de genes comprende además uno, más o todos los genes *R3HDM1*, *WDR55*, *ISY1*, *UBXN4* y *TRIM56*.

8. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que la expresión de dicho uno o más genes como se define en las reivindicaciones 5 o 6 se normaliza a la expresión de uno, más

o todos los genes como se define en la reivindicación 7.

9. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicha LPS es la suma ponderada de la expresión de genes o de la expresión de dichos genes calculada de acuerdo con la siguiente fórmula (fórmula I):

$$LPS(X) = \sum_j a_j X_j,$$

en la que X_j es la expresión génica para el gen j y a_j es el coeficiente para el gen j .

10. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicha LPS es ≤ 1100 .

11. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que dicha LPS es ≤ 749 .

12. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que dicha LPS es ≤ 725 .

13. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que dicho anticuerpo comprende una región Fc glucomanipulada.

14. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dicho anticuerpo tiene un incremento en la fracción de oligosacáridos no fucosilados unidos a dicha región Fc glucomanipulada.

15. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, en el que dicho anticuerpo tiene un incremento en la fracción de oligosacáridos no fucosilados bisectados unidos a dicha región Fc glucomanipulada.

16. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en particular de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dicho anticuerpo tiene niveles significativamente mayores de unión a los receptores FcγRIII humanos en relación con el anticuerpo no glucomanipulado y/o en relación con rituximab.

17. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en particular de acuerdo con la reivindicación 13, en el que dicho anticuerpo tiene niveles significativamente mayores de actividad ADCC en relación con el anticuerpo no glucomanipulado y/o en relación con rituximab.

18. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que dicho anticuerpo es obinutuzumab.

19. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en el que se van a administrar uno o más de otros agentes citotóxicos o quimioterapéuticos adicionales o radiación ionizante potenciando los efectos de dicho agente o agentes.

20. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en el que dicho anticuerpo se va a administrar en combinación con una quimioterapia CHOP.

21. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en el que dicho anticuerpo está comprendido en una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

22. Procedimiento para identificar a un paciente con DLBCL que responde a un tratamiento con obinutuzumab alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab,

comprendiendo dicho procedimiento determinar, usando una muestra de un paciente, si un paciente es un paciente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

23. Procedimiento para diagnosticar en un paciente una forma de DLBCL que se puede tratar con obinutuzumab de modo que se alcance un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab,

comprendiendo dicho procedimiento determinar, usando una muestra de un paciente, si un paciente es un paciente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, y diagnosticar dicha forma de DLBCL si el paciente es un paciente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

24. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, en el que (i) se ha determinado si dicho paciente es un paciente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que (ii) se ha sido identificado a dicho paciente de acuerdo con el procedimiento de la reivindicación 22, o en el

que (iii) una forma de LDLBG se ha diagnosticado en dicho paciente de acuerdo con el procedimiento de la reivindicación 23.

- 5 25. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 y 24, en el que dicho tratamiento comprende la etapa de (i) determinar si el paciente que se va a tratar es un paciente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, (ii) identificar a un paciente con LDLBG de acuerdo con el procedimiento de la reivindicación 22, o (iii) diagnosticar en el paciente una forma de LDLBG de acuerdo con el procedimiento de la reivindicación 23.
- 10 26. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 24 o 25, en el que dicho tratamiento comprende la etapa de determinar, usando una muestra del paciente, si el paciente que se va a tratar es un paciente como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.
- 15 27. El procedimiento de la reivindicación 22 o 23 o el anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 26, en el que dicha muestra es una muestra tumoral.

Figura 1

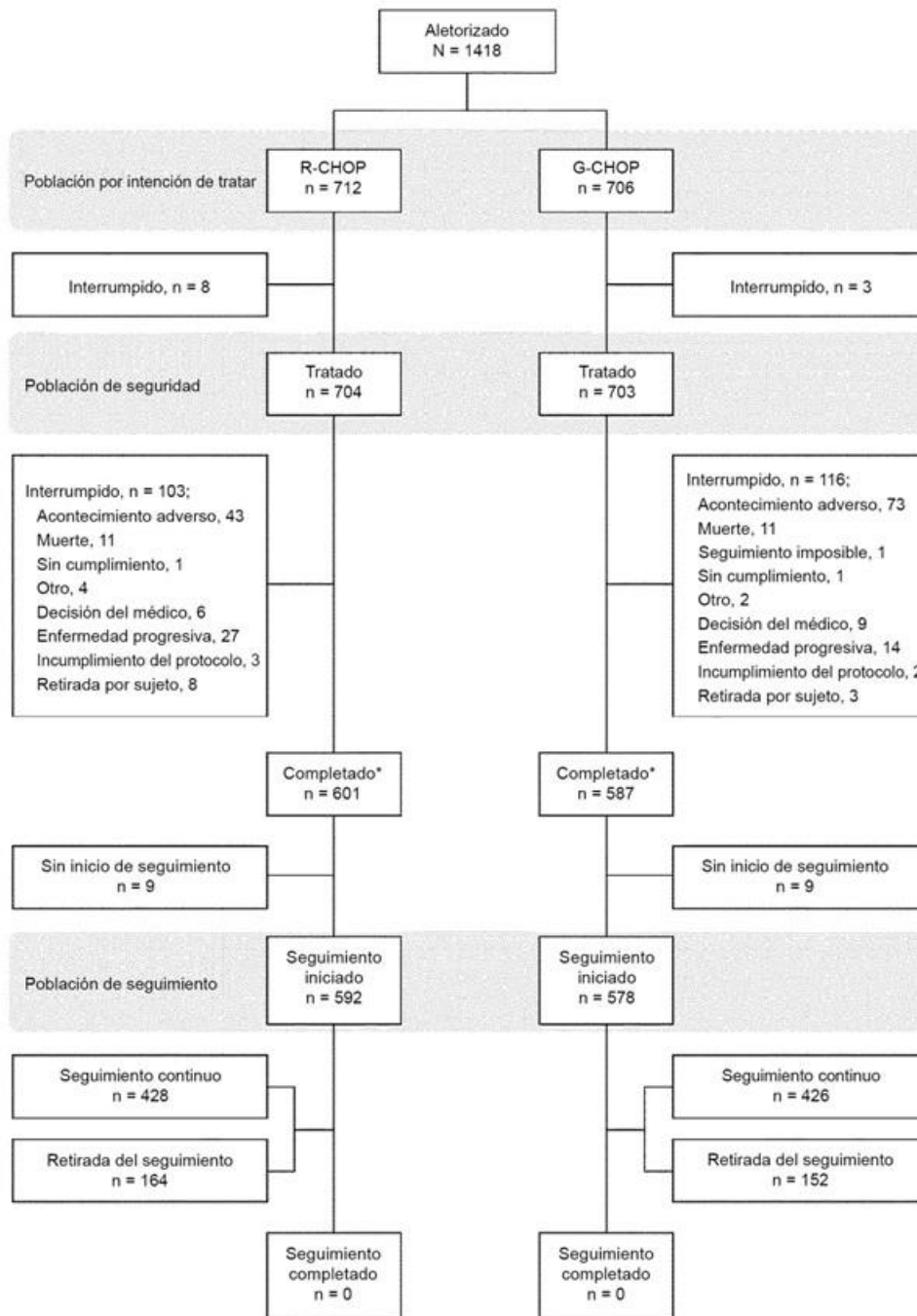
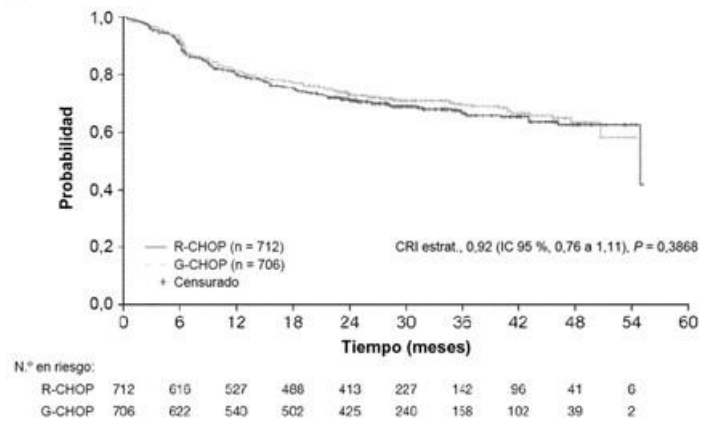
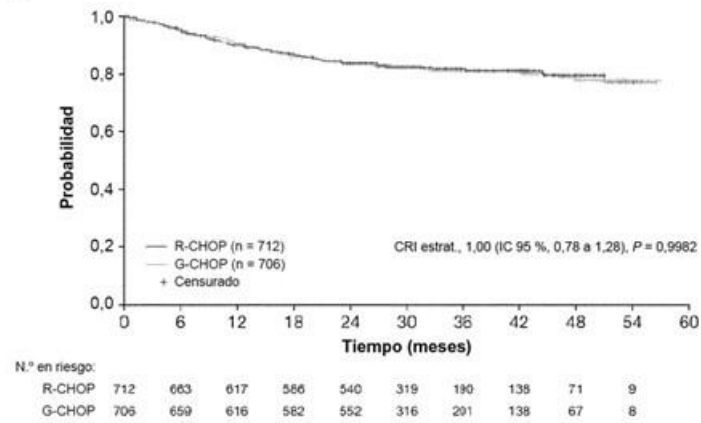


Figura 2

A



B



C

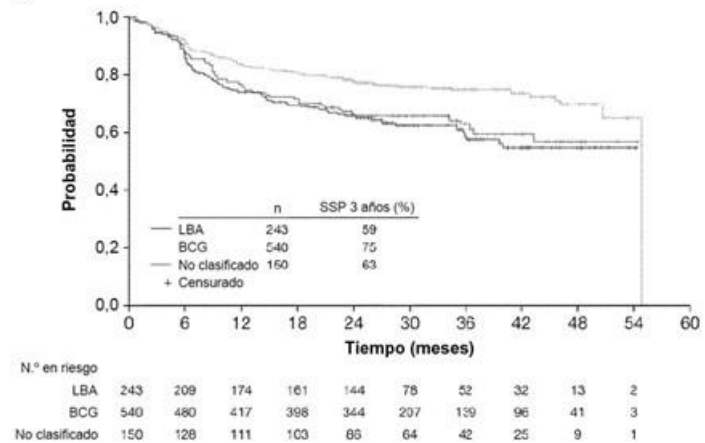
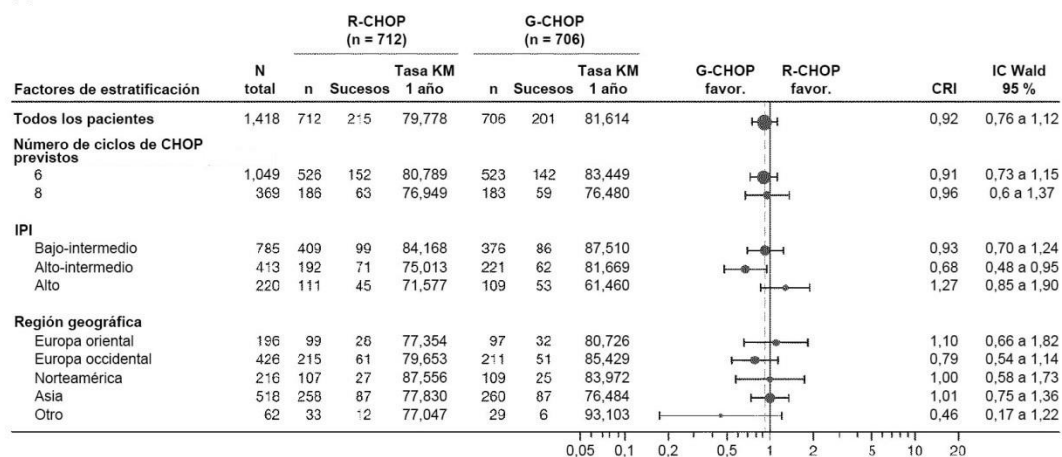


Figura 3

A



B

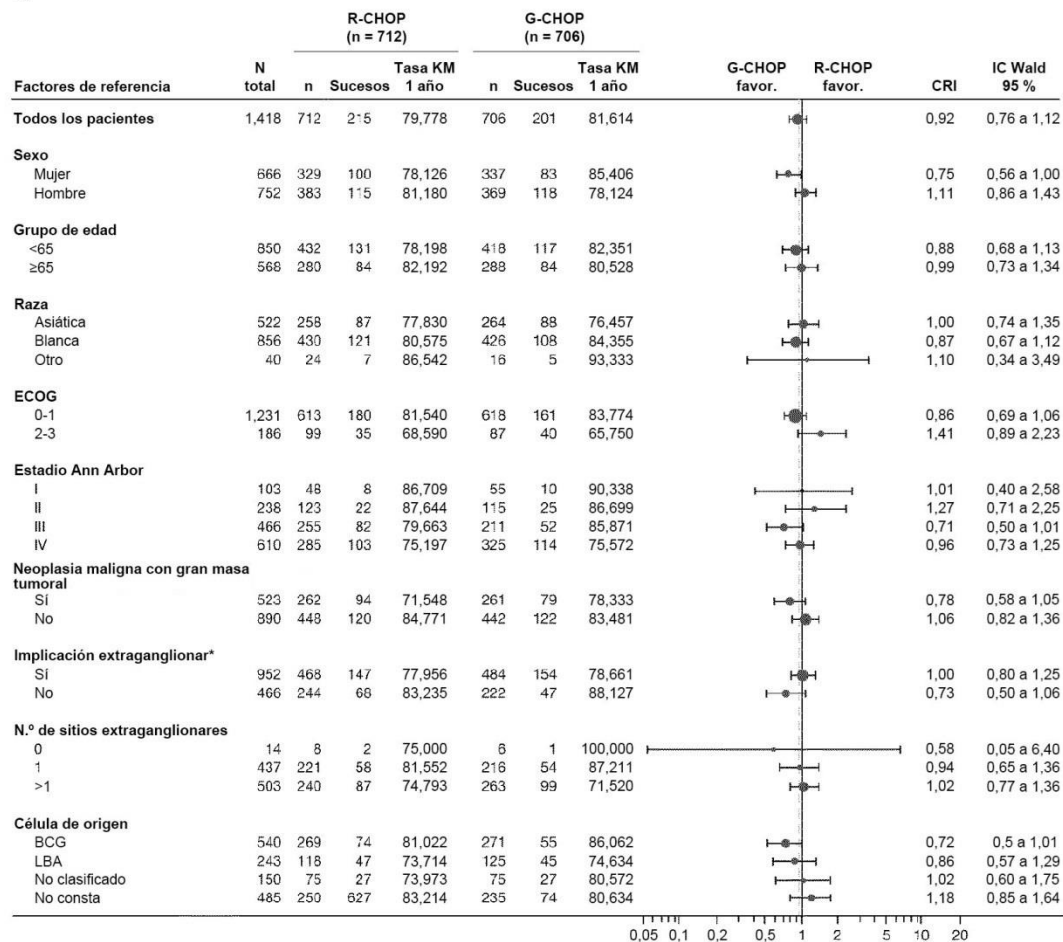


Figura 4

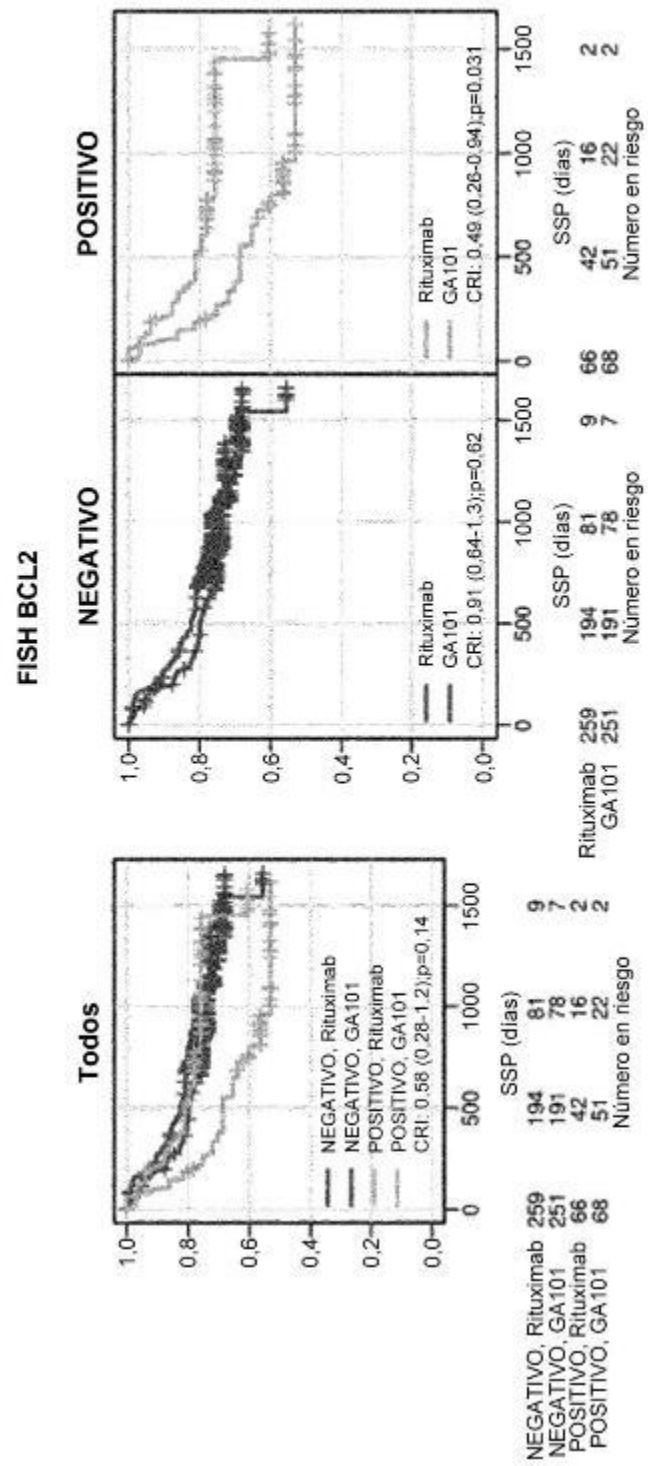


Figura 5

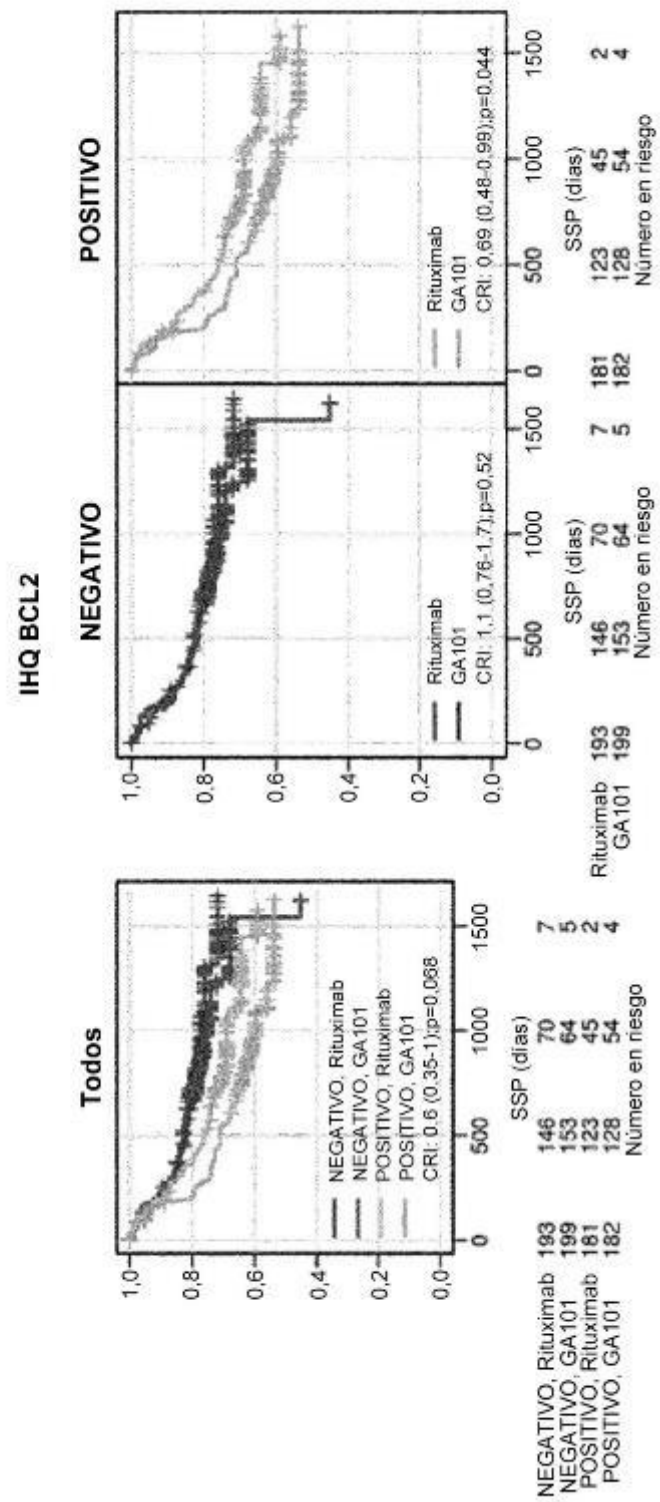


Figura 6

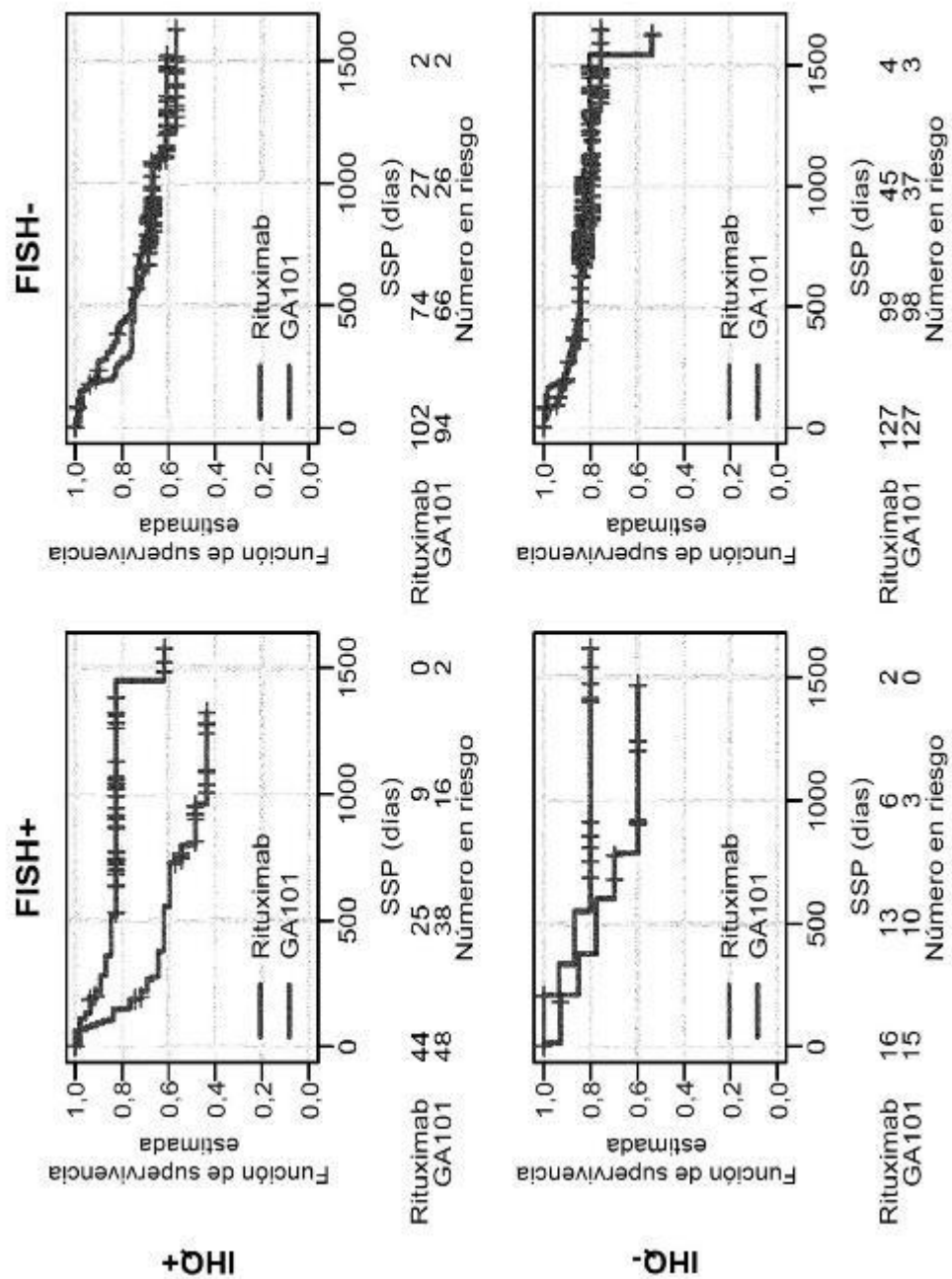


Figura 7A

Gráfico de BOSQUE: Asociación del efecto del tratamiento con el resultado de supervivencia SSP dentro de subgrupos de LPS (puntuación de factor pronóstico lineal)

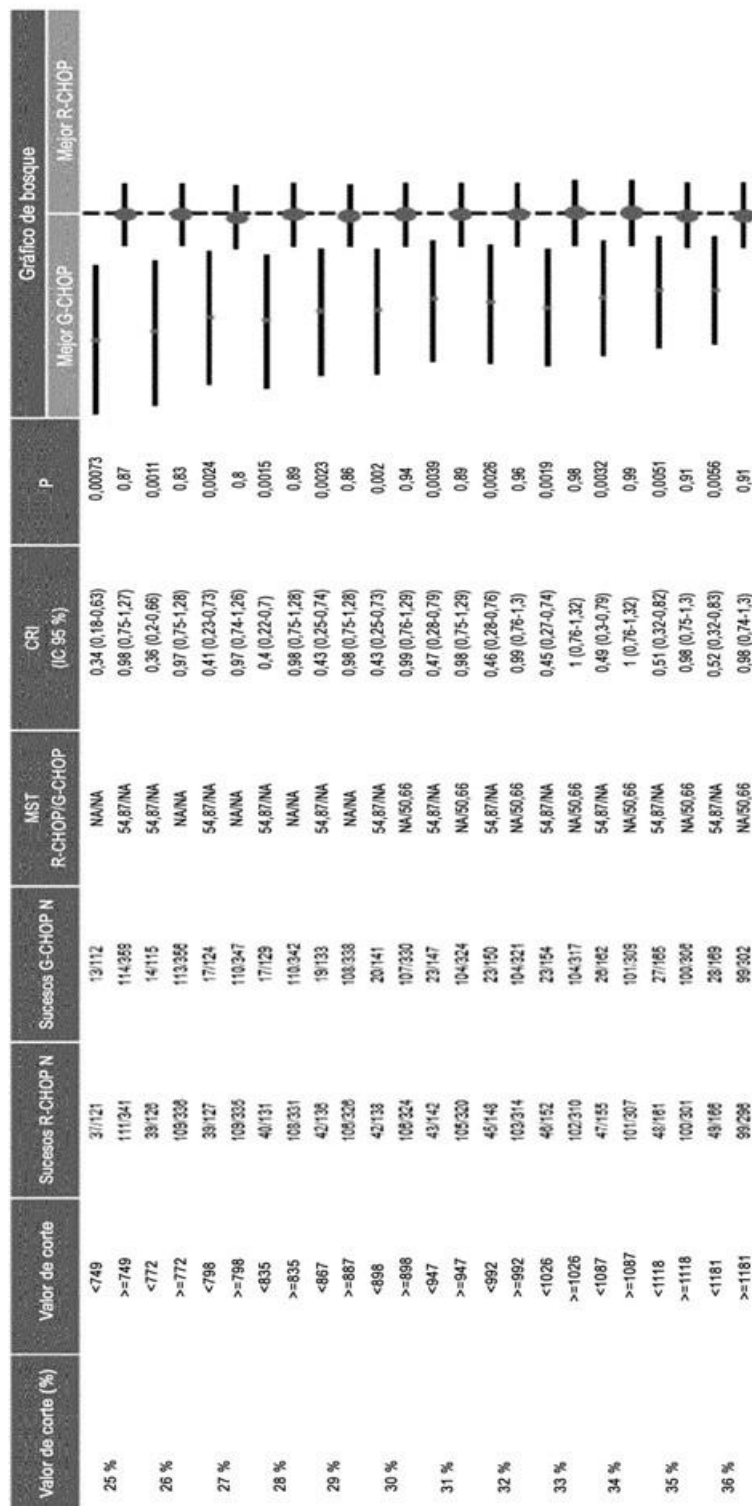


Figura 7B

Gráfico de BOSQUE: Asociación del efecto del tratamiento con el resultado de supervivencia SSP dentro de subgrupos de LPS
(puntuación de factor pronóstico lineal)

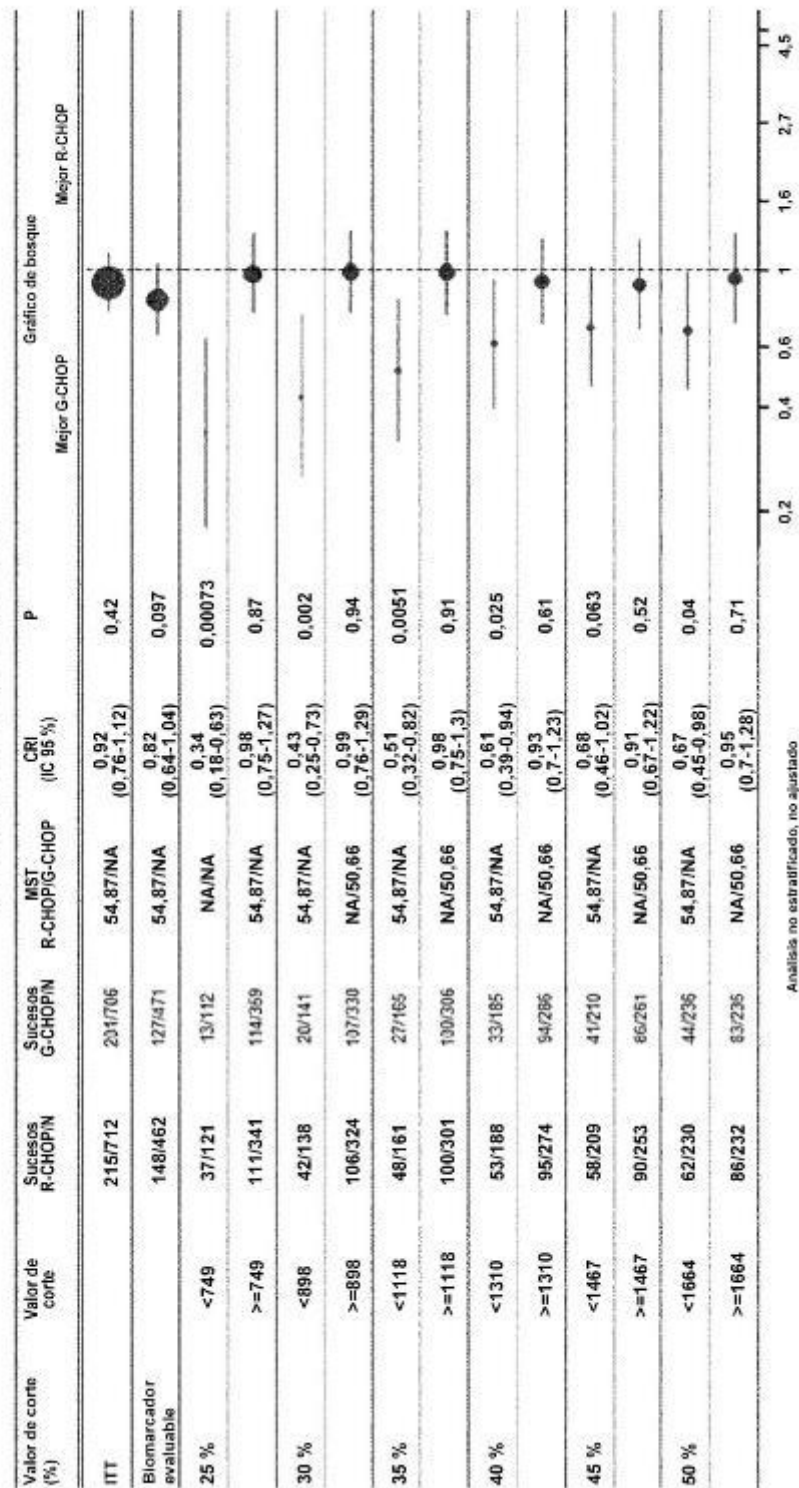
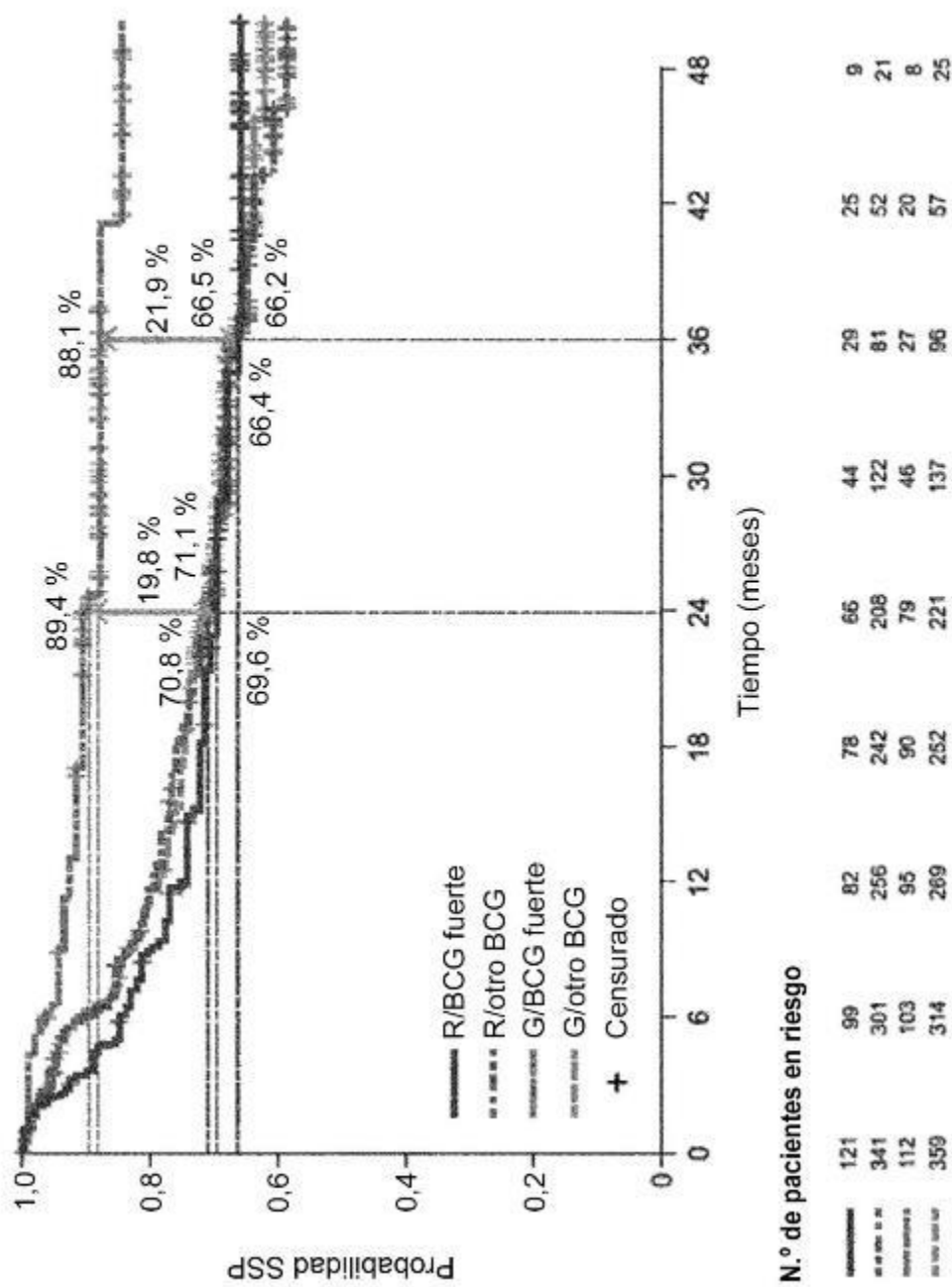


Figura 7C



G. obinituzumab; BCG, linfocitos B del centro germinativo; SSP, supervivencia sin progresión; R, rituximab

Figura 8

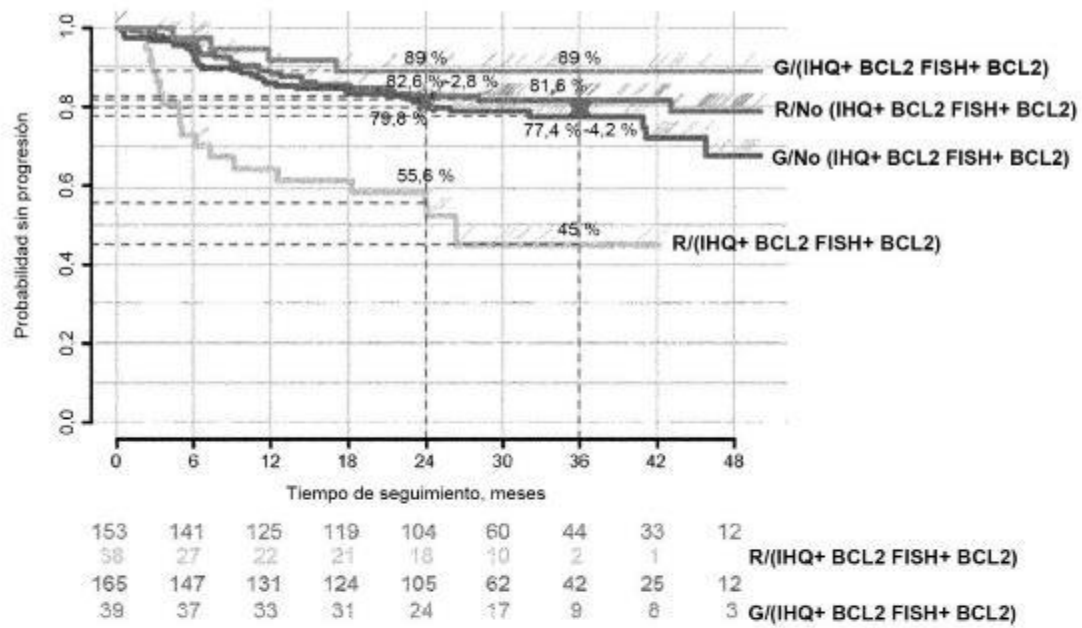


Figura 9

KM (SSP) en GOYA para
mutaciones de CD58
(cualquier tipo de mutación)

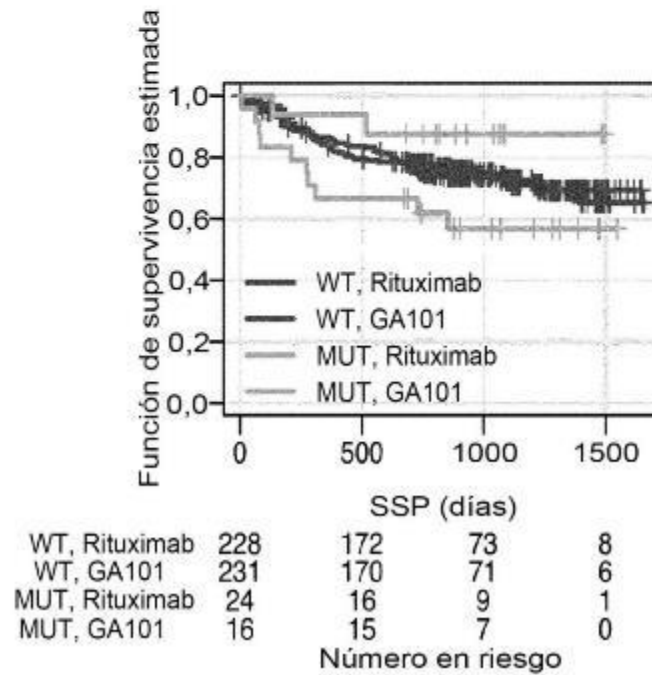


Figura 9 (continuación)

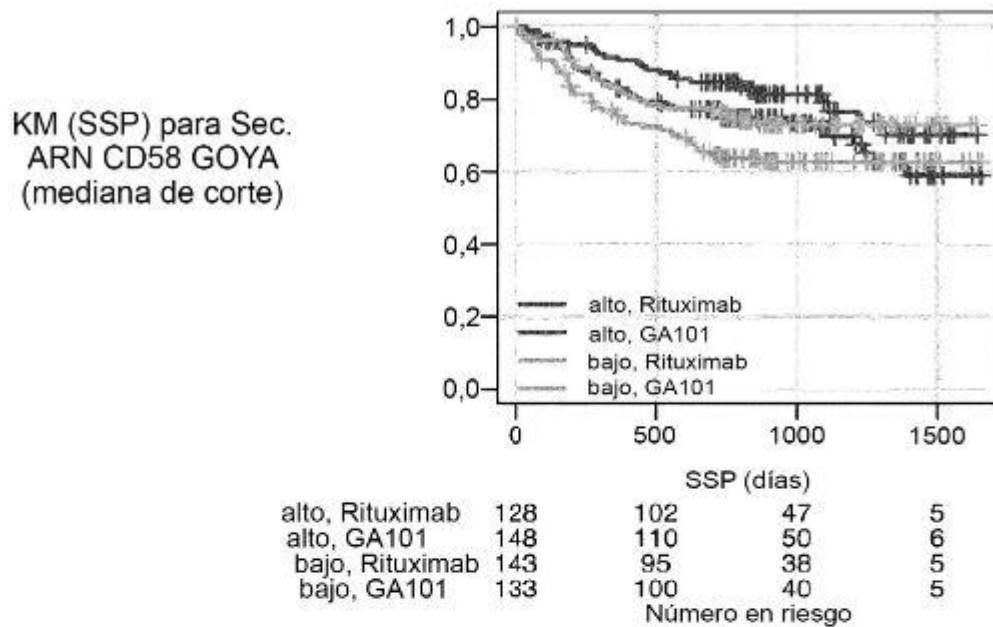


Gráfico de bosque que evalúa el efecto
del tratamiento (G frente a R) en cuartiles
de expresión génica de CD58

CRI (IC 95 %)

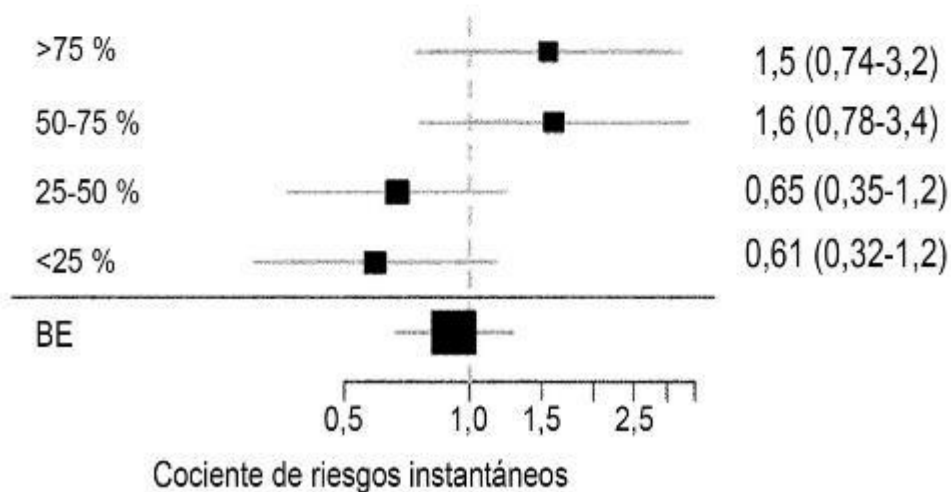


Figura 10

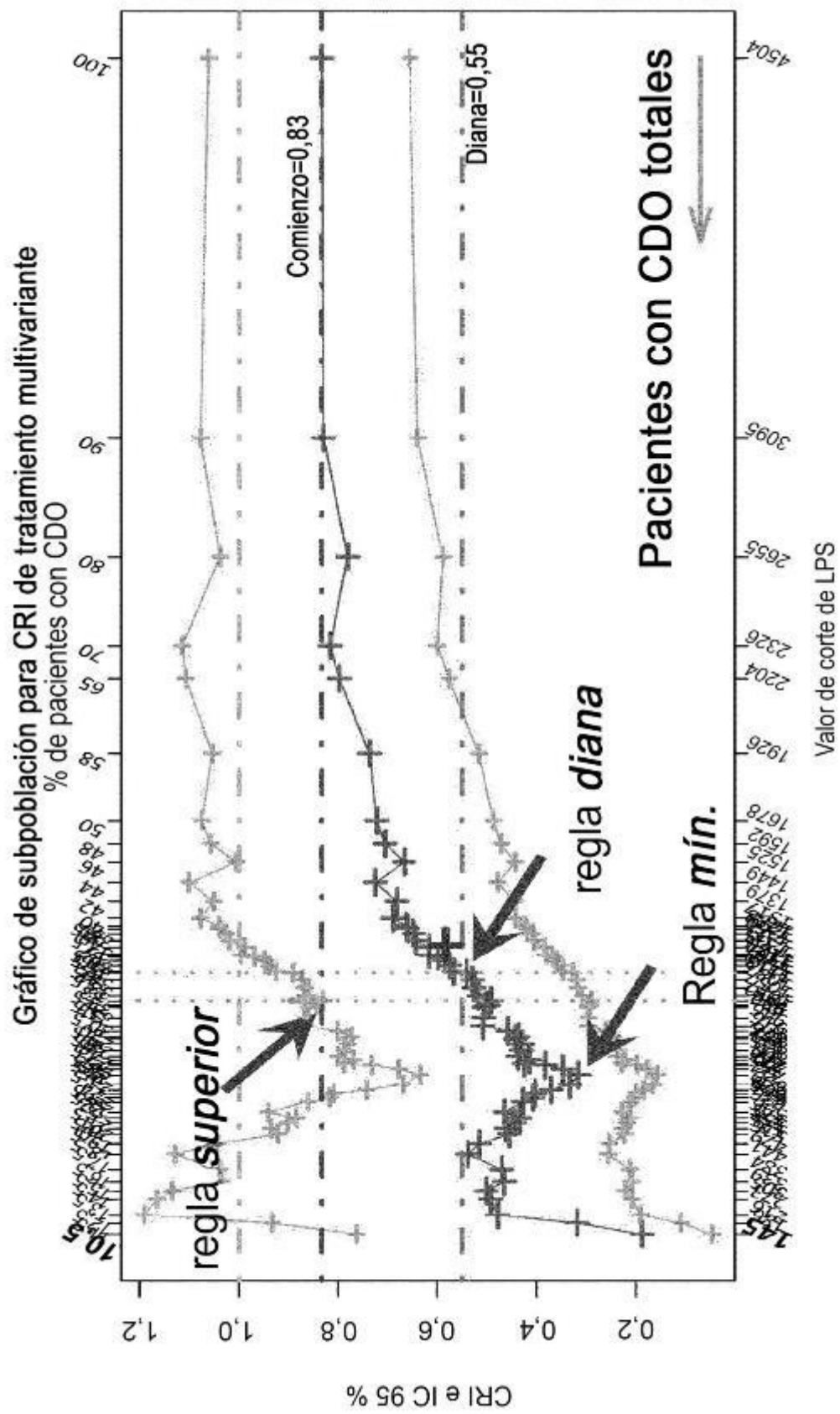
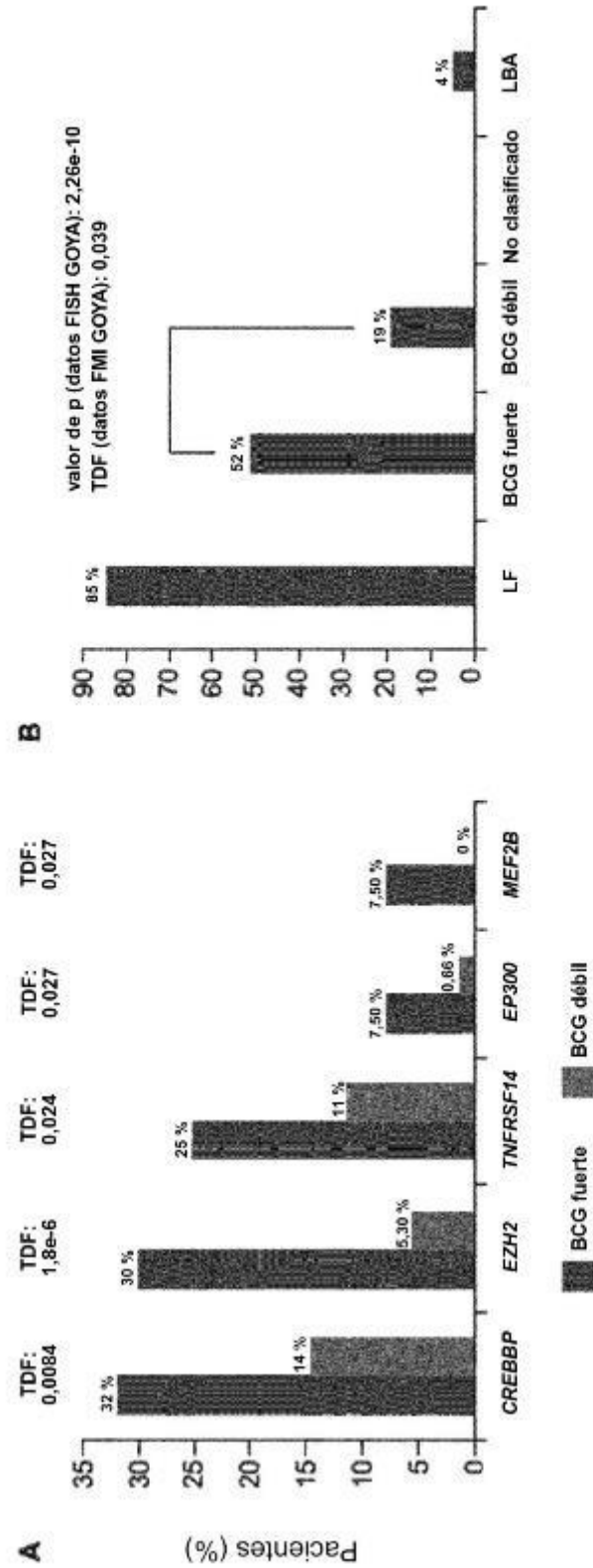


Figura 11



*Datos de GOYA Foundation Medicine NGS *Datos de LDLBG BCL2 FISH de GOYA (translocaciones de BCL2 identificadas con la sonda Break Apart FISH Probe [valor de corte de un 50 %]); Prevalencia de LF de la literatura; prevalencia en LDLBG 20 %, LDLBG BCG no fuerte 11 %, y BCG 33 %
LBA, linfocitos B activados; TDF, tasa de descubrimientos falsos; FISH, hibridación in situ con fluorescencia; BCG, linfocitos B del centro germinativo; NGS, secuenciación de segunda generación

Figura 12

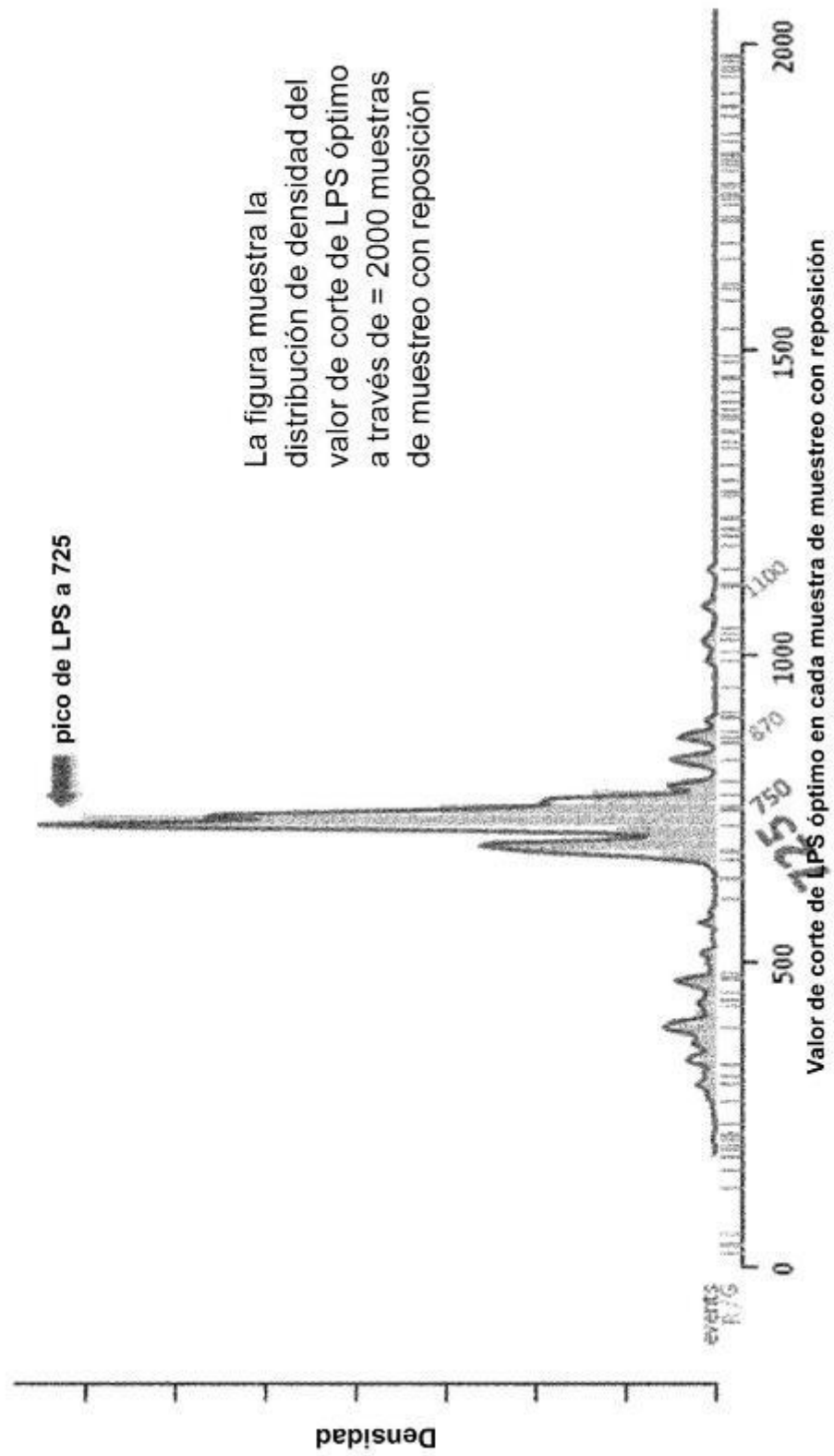


Figura 13

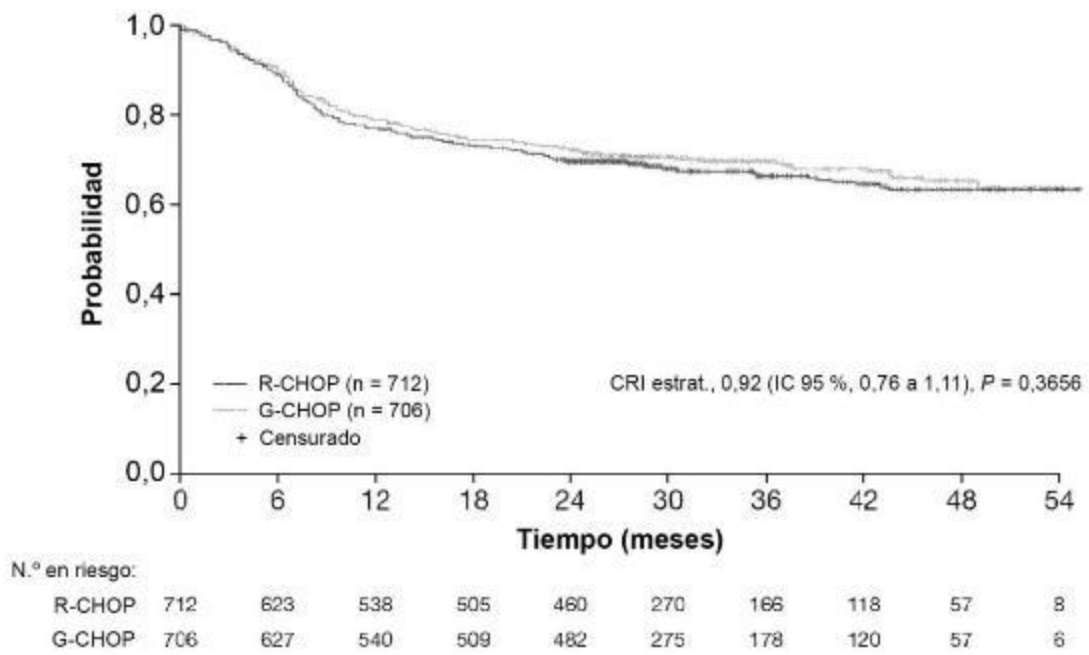


Figura 14 (cont.)

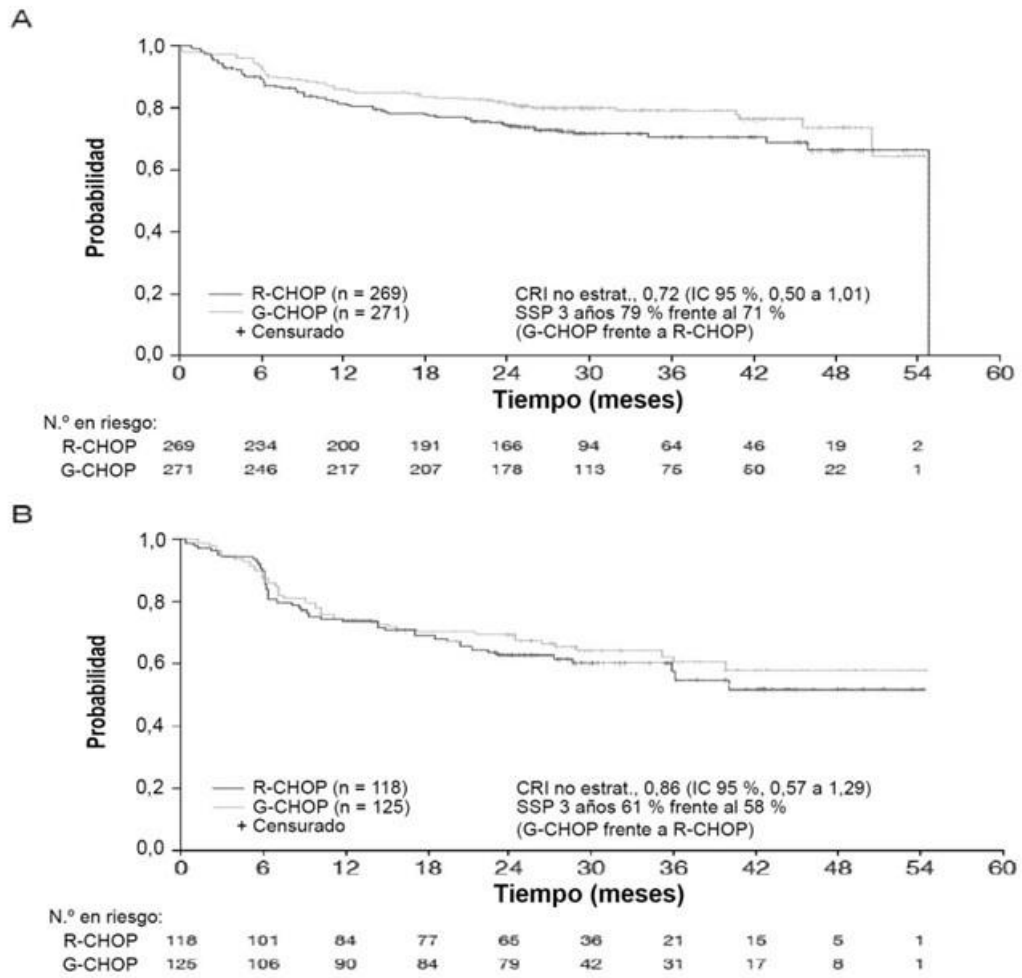
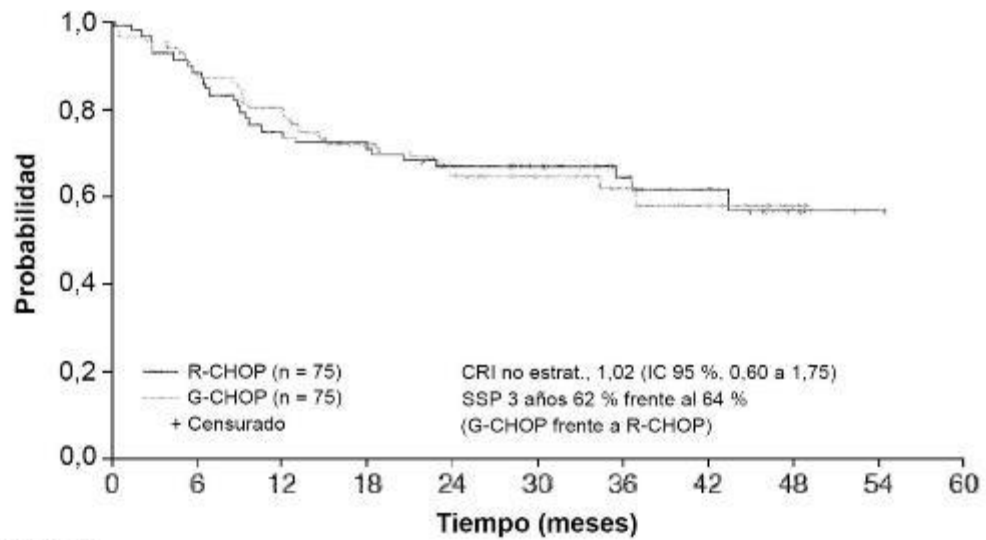


Figura 14 (continuación)

C



N.º en riesgo:

R-CHOP	75	65	54	52	43	36	25	15	6	1
G-CHOP	75	63	57	51	43	28	17	10	3	