

(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 LDLBG

- 5 La presente invención se refiere a obinutuzumab (o sus equivalentes funcionales) para su uso en el tratamiento de un paciente con LDLBG definido por biomarcador particular y un subgrupo de pacientes con LDLBG novedoso, respectivamente. Además, en el presente documento se divulga un procedimiento para tratar LDLBG con obinutuzumab (o sus equivalentes funcionales) en un paciente que lo necesita, en el que dicho paciente es un paciente con LDLBG definido por biomarcador particular o pertenece a un subgrupo de pacientes con LDLBG 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 LDLBG en el paciente con LDLBG definido por biomarcador particular/subgrupo de pacientes con LDLBG novedoso. La presente invención se refiere además a un procedimiento para identificar a un paciente con LDLBG particular/subgrupo de pacientes con LDLBG novedoso y un procedimiento para diagnosticar una forma novedosa de LDLBG y un paciente con LDLBG particular/subgrupo de pacientes con LDLBG 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 LDLBG definido por biomarcador particular y pertenece a dicho subgrupo de pacientes con LDLBG novedoso, respectivamente.
- 10
- 15
- 20 El linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) es el tipo más común de linfoma no hodgkiniano (LNH) agresivo. La inmunoquimioterapia con el anticuerpo monoclonal (mAb) anti-CD20 rituximab (R), más ciclofosfamida, doxorrubicina, 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 LDLBG 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).
- 25
- 30

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 LDLBG (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 LDLBG 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 LDLBG sin tratamiento previo (LDLBG 1L) con respecto al grupo completo de pacientes con LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG usando el ensayo NanoString Lymph2Cx (Scott 2014 y 2015 *loc. cit.*). En particular, Scott (2014 y 2015 *loc. cit.*) asignó los subtipos CDO de LDLBG, LDLBG similar a linfocitos B del centro germinativo (LDLBG BCG), LDLBG similar a linfocitos B activados (LDLBG LBA) y LDLBG 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 LDLBG. Wright (PNAS 100(17), 2003, 9991-6) formuló una prueba diagnóstica basada en expresión génica para la clasificación de subgrupos de LDLBG biológica y clínicamente distintos.

65 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 LDLBG 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 β2-microglobulina y CD58 revela una resistencia frecuente del reconocimiento inmunitario en LDLBG.

Dubois (Clin Cancer Res 22(12), 2016, 2919-28) analiza la secuenciación de segunda generación en LDLBG 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 LDLBG. 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.

10 15 A pesar del éxito previo en el tratamiento de LDLBG (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 LDLBG (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 LDLBG en determinados pacientes.

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

30 35 40 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).

45 50 55 60 Se descubrió sorprendentemente que, de todos los pacientes con LDLBG, 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 LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG particulares y subgrupos de pacientes con LDLBG, 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).

65 70 75 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 LDLBG BCG (por ejemplo, en un subgrupo de pacientes con LDLBG BCG similar a linfoma folicular (LF) molecular nuevo) y/o en pacientes con LDLBG 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.

80 Por ejemplo, en el contexto de la presente invención, se han identificado/determinado los siguientes pacientes con LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG 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).

20 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.

30 Sobre esta base, se podrían determinar nuevos valores de corte de LPS que definan un subgrupo de pacientes con LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG BCG fuerte. Esto se demostró por 40 simulaciones de muestreo con reposición.

45 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.

50 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 55 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*, *PCL0*, *TNFAIP3*, *TNFRSF14*) estaban altamente enriquecidas en pacientes con BCG fuerte y/o en pacientes con LDLBG con translocaciones de BCL2 y/o con alta expresión de BCL2, en comparación con otros pacientes con LDLBG (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.

60 En resumen, se han identificado nuevos subtipos clínica y molecularmente distintos de LDLBG, en particular de LDLBG BCG, entre otros, un subtipo denominado "BCG fuerte". Los subtipos identificados representan LDLBG *de novo*. Estos presentan rasgos característicos moleculares de LF, tales como mutaciones típicas de LF (véase 65 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 LDLBG (BCG) ("paciente definido en el presente documento"), en particular de LDLBG (BCG) 1L.

65 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,
- 5 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 (LDLBG) 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 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 *BCL2* translocada y/o un paciente con LDLBG con alta expresión de *BCL2* en el que un ≥50 % de las células tumorales expresan *BCL2*.
- 10 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).
- 15 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).
- 20 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).
- 25 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*.
- 30 6. El anticuerpo para su uso de acuerdo con el punto 4(i) o 5, en el que dicho paciente con LDLBG 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.
- 35 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*.
- 40 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.
- 45 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. 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. 11. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 10, en el que dicha LPS es ≤ 749 .
- 10 12. 12. El anticuerpo para su uso de acuerdo con uno cualquiera de los puntos 1 a 11, en el que dicha LPS es ≤ 725 .
- 15 13. 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. 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.
- 20 15. 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.
- 25 16. 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. 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.
- 30 18. 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. 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.
- 35 20. 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.
- 40 21. 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. 22. Procedimiento para identificar a un paciente con LDLBG que responde a un tratamiento con obinutuzumab alcanzando un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab,
- 45 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. 23. Procedimiento para diagnosticar en un paciente una forma de LDLBG que se puede tratar con obinutuzumab de modo que se alcance un resultado clínico mejorado en comparación con un tratamiento con rituximab,
- 50 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 LDLBG si el paciente es un paciente como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 12.
- 55 24. 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 LDLBG se ha diagnosticado en dicho paciente de acuerdo con el procedimiento del punto 23.
- 60 25. 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 LDLBG de acuerdo con el procedimiento del punto 22, o (iii) diagnosticar en el paciente una forma de LDLBG de acuerdo con el procedimiento del punto 23.
- 65 26. 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.

5 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.

10 En el presente documento se divultan 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).

15 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.

20 25 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.

30 35 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

40 (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 aminoacídicos 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 aminoacídicos 1 a 115); o

45 (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,

50 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.

55 60 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.

65 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.
- 5 10 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*.
- 20 25 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*.
- 30 35 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
- 40 45 (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 $\log_2(\text{lecturas normalizadas por kilobase por millón (nRPKM)}) \leq 5,2$;
- 50 55 (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 $\geq 50\%$ de las células tumorales expresan *BCL2*.
- En un aspecto (A), el paciente definido en el presente documento es un paciente definido por biomarcador predictivo.
- 55 60 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 efectores 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=fAeHyO5JTBGxnObh2WlrCA.0&utm_referrer=https%3A%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2Fsearch%2Fterm%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/\).](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 LDLBG común, más particular pacientes con LDLBG 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 log₂(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 log₂(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 log₂(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 log₂(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 LDLBG comunes y/o linfocitos B de LDLBG comunes. "LDLGB 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 LDLBG y linfocitos B de LDLBG, respectivamente, derivados de un paciente con LDLBG 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 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)).

5 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.).

10 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).

15 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 LDLBG BCG, LDLBG LBA y LDLBG 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 tampón).

20 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):

$$25 \quad LPS(X) = \sum_j a_j X_j,$$

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")

30 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 35 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.*).

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

45 Se puede usar la regresión multivariante de Cox y/o la regresión penalizada de red elástica ($\alpha=0,5$) 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.

50 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).

55 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.

60 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.

65 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.

5 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 LDLBG.

10 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=.fAeHyQ5JTBGxnObh2WlrlCA.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.

20 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*.

25 25 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 Puunoose (*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.

30 30 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 Puunoose (*loc. cit.*).

35 35 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).

40 40 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.*).

45 45 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).

50 50 "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, ± 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 LDLBG común, más particular pacientes con LDLBG 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 LDLBG. Por ejemplo, puede ser del paciente con LDLBG 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 LDLBG que no responde al tratamiento (distinto de "paciente definido en el presente documento" que es un paciente con LDLBG). 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 LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG 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).

- 5 10 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.

- 15 20 En principio, se prevé que el paciente que se va a tratar sea un paciente con LDLBG. En otras palabras, el paciente es un paciente con/que padece LDLBG. 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 LDLBG y un paciente con/que padezca LDLBG, respectivamente. Sin embargo, no se requiere necesariamente que un paciente dado se diagnostique como paciente con LDLBG, 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*.
- 25 30 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 LDLBG, 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 LDLBG, 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 (DLBC)L.

- 35 40 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 (DLBC)L 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.

- 45 50 55 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 LDLBG definidos en el presente documento.

- 60 65 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).

- 60 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 aminoacídicos 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 aminoacídicos 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 Fc_YRIII 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

5 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 Fc_YRIII 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.

10 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).

15 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.

20 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.

25 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:

30 (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;

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

40 (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));

45 (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));

50 (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);

55 (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);

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

65 (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 FcyRIII 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 divultan, 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, 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 divultan, 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 divultan, por ejemplo, en Herter (*loc. cit.*), Mössner (*loc. cit.*), documentos EP-B1 238090, WO 2005/044859, WO 2015/067586 y WO 2016/207312.
- 60 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.

- 5 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 divultan, 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.
- 10 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.
- 15 Un ensayo de ADCC *in vitro* aceptado, no limitante, es como sigue:
- 20 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);
 - 25 2) el ensayo usa células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humanas, aisladas de sangre de un donante sano elegido al azar, como células efectoras;
 - 30 3) el ensayo se lleva a cabo de acuerdo con el siguiente protocolo:
 - 35 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;
 - 40 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;
 - 45 iii) se transfieren 100 microlitros de la suspensión de células diana final anterior a cada pocillo de una placa de microvaloración de 96 pocillos;
 - 50 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;
 - 55 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);
 - 60 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);
 - 65 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);
 - 65 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 divultan, 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 divultan, 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 divultan, 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).

- 5 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.
- 10
- 15
- 20
- 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.
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 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:

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

- 60 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.
- 65

- 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.
- 5 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 epítopo de cualquiera de los anticuerpos y fragmentos mencionados anteriormente.
- 10 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 15 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.
- 20 Un "anticuerpo humanizado" se refiere a un tipo de anticuerpo genomanipulado que tiene su CDR derivadas de 25 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).
- 25 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 30 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)).
- 35 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>).
- 40 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 45 del anticuerpo.
- 45 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 antigenéticos.
- 50 Como se usa en el presente documento, el término "soluble" quiere decir parcial o completamente disuelto en una solución acuosa.
- 55 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.
- 60 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.
- 65 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

5 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.

10 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:

15 Cadena pesada

QVQLVQSGAE	VKKPGSSVKY	SCKASGYAFS	YSWINWVRQA	PQOGLEWMGR	50
IFPGDGDTDY	NGKFKGRVTI	TADKSTSTAY	MELSSLRSED	TAVYYCARNV	100
FDGYWLVYWG	QGTILTVSSA	STKGPSVFPL	APSSKSTSGG	TAALGCLVKD	150
YFPEPVTVSW	NSGALTSGVH	TFPAVLQSSG	LYSLSSVVTV	PSSSLGTQTY	200
ICNVNHKPSN	TKVDKKVEPK	SCDKTHTCPP	CPAPELLGGP	SVFLFPPKPK	250
DTLMISRTPE	VTCVVVDVSH	EDPEVKFNWY	VDGVEVHNAK	TKPREEQYNS	300
TYRVVSVLTV	LHQDWLNGKE	YKCKVSNKAL	PAPIKTISK	AKGQPREGQV	350
YTLPPSRDEL	TKNQVSLTCL	VKGFYPSDIA	VEWESNGQPE	NNYKTTTPVVL	400
DSDGSFFLYS	KLTVDKSRWQ	QGNVFSCSVM	HEALHNHYTQ	KSLSLSPGK	449

20 Cadena ligera

DIVMTQTPLS	LPVTPGE PAS	ISCRSSKSLL	HSNGITYLYW	YLQKPGQSPQ	50'
LLIYQMSNLV	SGVPDRFSGS	GSGTDFTLKI	SRVEAE DVGV	YYCAQNLELP	100'
YTEGGGTTKVE	I KRTVAAPSV	FIFPPSDEQL	KSGTASVVCL	LNNFYPREAK	150'
VQWKVDNALQ	SGNSQESVTE	QDSKDSTYSL	SSTTLSKAD	YEHKVYACE	200'
VTHQGLSSPV	TKSFNRGEC				219'

25 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

30 H CH₂ N84.4

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

35 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.

40 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 clínica del tratamiento se pueden evaluar a este respecto. Los resultados clínicos/criterios de valoración clínica 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.

45 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), trietileno, tiofosforamida (tiotepa), hexametilmelamina (HMM, altretamina); sulfonatos de alquilo tales como busulfano; triacinas tales como dacarbazine (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'-difluorodesoxicitidina, análogos de purina tales como 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, T-desoxicofomicina (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 hidroxurea, derivados de metilhidracina que incluyen N-metilhidracina (MIH) y procarbacina, 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 leuprorelina; 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 multicitinasa, 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, hidroxiaunorrubricina, 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 octadecildimetilbencilmonio; 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 eliminan, 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.

5 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.

10 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 LDLBG 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.

15 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.

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

25 Las figuras muestran:

Figura 1

35 Disposición de pacientes en GOYA.

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

40 †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.

45 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).

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

Figura 2

55 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.

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

Figura 3

65 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, doxorrubicina, vincristina y prednisona; IPI, índice pronóstico internacional; KM, Kaplan-Meier; SSP, supervivencia sin progresión; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorrubicina, 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

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

20 **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.

10 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[†]

15 [#]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; LDLBG, 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.

25 **Figura 12**

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

30 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."

35 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

40 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

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

Figura 13

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

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

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,

60 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, doxorrubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; CRI: cociente de riesgos instantáneos; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina y prednisona/prednisolona.

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, doxorrubicina, 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, doxorrubicina, 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, doxorrubicina, 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, doxorrubicina, 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 ≥ 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 (43)
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	Grado 3-5 AA
	Grave AA	Grave AA
Trastornos sanguíneos y del sistema linfático		
Número total de pacientes con al menos un AA	415 (58,9)	348 (49,5)
Neutrocitopenia	325 (46,2)	268 (38,1)
Neutrocitopenia febril	123 (17,5)	107 (15,2)
Leucocitopenia	96 (13,6)	71 (10,1)
Anemia	51 (7,2)	53 (7,5)
Infecciones e infestaciones		
Número total de pacientes con al menos un AA	135 (19,2)	121 (17,2)
Neumonía	40 (5,7)	35 (5,0)

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

*Los AA mortales que se informaron en más de un paciente en cualquier grupo, enumerados como términos preferentes, fueron: choque septicémico (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 <i>p</i>	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]; <i>p</i> =0,0007 R: 66 %; G: 88 %	0,99 [0,76-1,28]; <i>p</i> =0,9117 R: 66 %; G: 66 %
SSS	0,47 [0,28-0,78]; <i>p</i> =0,00344 R: 59 %; G: 80 %	1,01 [0,79-1,29]; <i>p</i> =0,9513 R: 63 %; G: 62 %
SG	0,41 [0,20-0,87]; <i>p</i> =0,019 R: 79 %; G: 92 %	1,10 [0,79-1,53]; <i>p</i> =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, doxorrubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; R-CHOP, rituximab más ciclofosfamida, doxorrubicina, 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, doxorrubicina, vincristina y prednisona/prednisolona; VHB, infección por hepatitis B; MedDRA, diccionario médico para actividades de registro farmacéutico; R-CHOP rituximab más ciclofosfamida, doxorrubicina, 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 diversidad de marcas que se pueden mezclar en un solo pocillo para la hibridación directa con la diana y aún así 20 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) 30 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.*).

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 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 inmunoquimioterapia:

- 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.

10 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.

20 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.

30 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.

35 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

40 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 sobrelleñado).

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

b Manipulación y Almacenamiento

50 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 asepticas. No se usa filtro en línea adicional debido a la posible adsorción.

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

c Dosis y pauta de obinutuzumab

65 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 tasa de infusión final de ≥ 100 mg/h, se comienza la infusión con una reducción de un 50 % en la tasa y se incrementa la tasa de infusión en incrementos de 100 mg/h, usando 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 siguientes instrucciones: <ul style="list-style-type: none"> • Si el paciente toleró bien la infusión previa (definida como una ausencia de reacciones de grado 2 durante una infusión con una tasa de 100 mg/h), se comienza la infusión con una reducción de un 50 % en la tasa y se incrementa la tasa de infusión en incrementos de 100 mg/h, usando la tasa en el momento en que se produjo la reacción de hipersensibilidad o relacionada con la infusión si la reacción se resolvió. • Si se desarrolla una reacción a la infusión, se detiene la infusión con una reducción de un 50 % en la tasa y se incrementa la tasa de infusión en incrementos de 100 mg/h, usando 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

5 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 corticoesteroides (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

10 CHOP se considera tratamiento estándar para el tratamiento de LDLBG. 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

15 La quimioterapia CHOP consiste en ciclofosfamida i.v., doxorrubicina 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.

- 20
- Ciclofosfamida 750 mg/m² administrada por vía intravenosa el día 1
 - Doxorrubicina 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
- 25
- Prednisona 100 mg/día por vía oral (v.o.) los días 1-5

30 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.

35 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.

40 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 infusions 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.

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

Pacientes

60 Los pacientes elegibles tenían ≥ 18 años de edad con: LDLBG 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 eyeción 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.
- 10 2. Linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) positivo para CD20 sin tratamiento previo documentado histológicamente usando lo siguiente:
- a. El informe anatomopatológico debe estar disponible para su evaluación y un tajo 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 tajo de tejido disponible y se incluirá la anotación del tipo de fijador.
- c. Si no está disponible un tajo 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 tajo 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 $\geq 7,5$ cm.
- 30 4. 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 5. Al menos una lesión medible bidimensionalmente definida como $> 1,5$ cm en su dimensión más grande en tomografía computarizada.
6. Capacidad y disposición para cumplir con los procedimientos del protocolo de estudio.
- 40 7. Valoración funcional del Eastern Cooperative Oncology Group de 0, 1 o 2.
8. Fracción de eyección del ventrículo izquierdo $\geq 50\%$ 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 LDLBG según el investigador) definida como sigue:
- 50 a. Hemoglobina ≥ 9 g/dl;
- b. Recuento absoluto de neutrófilos $\geq 1,5 \times 10^9/l$;
- c. Recuento de plaquetas $\geq 75 \times 10^9/l$.
- 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.

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.
- 15 3. Pacientes con linfoma transformado y pacientes con linfoma folicular en estadio 3b.
- 20 4. Tratamiento previo para LDLBG, con la excepción de biopsia ganglionar o irradiación local.
- 25 5. Tratamiento previo con fármacos citotóxicos o rituximab para otra afección (por ejemplo, artritis reumatoide) o uso previo de un anticuerpo anti-CD20.
- 30 6. Uso previo de cualquier anticuerpo monoclonal dentro de los 3 meses posteriores al inicio del ciclo 1.
- 35 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 corticoesteroides 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).
 - 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.
- 40 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, LDLBG mediastínico primario, linfoma de efusión primario, linfoma plasmablástico y LDLBG cutáneo primario.
- 45 9. Vacunación con vacunas vivas dentro de los 28 días antes a la aleatorización.
- 50 10. Cualquier tratamiento en investigación dentro de los 28 días antes del inicio del ciclo 1.
- 55 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.
 - 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.
- 60 12. Pruebas de enfermedades concomitantes significativas y no controladas que podrían afectar al cumplimiento del protocolo o a la interpretación de resultados, incluyendo cardiovasculopatía 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).
- 65 13. Cirugía mayor reciente (dentro de las 4 semanas antes del inicio del ciclo 1), que no sea para diagnóstico.
- 66 14. Cualquiera de los siguientes valores de laboratorio anómalos (a menos que cualquiera de estas anomalías se deba a un linfoma subyacente):
 - 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.
 - c. Bilirrubina total ≥ 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.

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

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.

30 19. Antecedentes conocidos de estado seropositivo para VIH.

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

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

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).

40 21. Pacientes con antecedentes de leucoencefalopatía multifocal progresiva confirmada.

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); doxorrubicina 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, doxorrubicina,

- 5 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 allopurinol) para pacientes con alta carga tumoral y que se consideraban en riesgo de lisis tumoral.
- 10 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.

15 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 neutropenia. 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).

20 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 25 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 LDLBG (similar a linfocitos B del centro germinativo [BCG], similar a linfocitos B activados 30 [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.).

35 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) 40 o 6-8 semanas (FDG-PET) después del último tratamiento de estudio, o antes en caso de interrupción temprana.

45 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

50 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.

60 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 %.

65 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 10 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 15 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 25 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.

30 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 impidió 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 ($n = 131$).

35 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 40 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

50 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).

55 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

60 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).

65 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 LDLBG 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 LDLBG 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 LDLBG (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 LDLBG, 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 LDLBG. Los ensayos aprobados 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

5 logró mejorar los resultados en un ensayo aleatorizado de pacientes con LDLBG 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 LDLBG, la sustitución de rituximab por un nuevo anticuerpo anti-CD20 con un 10 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 15 distintos de LDLBG, 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 LDLBG (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 inmunoterapia (incluyendo R-CHOP), y puede representar

20 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 LDLBG 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

25 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 LDLBG pueden ofrecer una estrategia alternativa para

30 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 LDLBG (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. 15(2014), 730-737; Younes, Lancet Oncol 15, 2014, 1019-1026). Estas estrategias se están evaluando actualmente en estudios aleatorizados de fase 3.

35 40 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 LDLBG sin tratamiento previo en comparación con R-CHOP, que sigue siendo el tratamiento estándar para estos pacientes. No se identificaron nuevas señales de seguridad.

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

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

Sumario

55 Rituximab (R) más quimioterapia CHOP es el tratamiento de referencia en linfoma difuso de linfocitos B grandes (LDLBG) 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 LDLBG en estadio avanzado sin tratamiento previo. El ensayo GOYA en LDLBG 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).

60 En los análisis exploratorios de GOYA, se observa superioridad de Gazyva™ sobre Rituximab en un subconjunto de pacientes con LDLBG 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 65 de LDLBG.

Los resultados sugieren que (un) subconjunto(s) de pacientes con LDLBG 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.

5 **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.).

10 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.

15 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).

20 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.

25 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

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

- 35 • 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)
- 40 • Un subconjunto de pacientes con LDLBG 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)
 - pacientes con BCG con alta expresión génica de BCL2
 - pacientes con BCG con sobreexpresión de proteína BCL2
 - 50 ○ pacientes con BCG con translocación de BCL2
 - pacientes con BCG con translocación de BCL2 con sobreexpresión de proteína BCL2 (véase la figura 8)
 - 55 • 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 LDLBG similar a LF molecular - Resultados del ensayo de fase 3 GOYA

Procedimientos

60 GOYA fue un estudio de fase 3 aleatorizado, abierto, que comparó G-CHOP 1L con R-CHOP en 1418 pacientes con LDLBG. 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

5 para evaluar la expresión de *BCL2* (clon de anticuerpo *BCL2*, 124); se definió IHQ *BCL2+* como una tinción moderada/fuerte en un $\geq 50\%$ 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

10 consentimiento para los análisis de biomarcadores.

15

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-GHOP (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 LDLBG (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 LDLBG BCG que comprende al menos alrededor de un 25 % de todos los pacientes con LDLBG, 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 LDLBG1L.

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 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 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

caggtgcaat tggtgcgagtc tggcgctgaa gttttaagaagc ctggggaggttc agtgaagggtc 60
tcctgcaagg cttccggata cgcccttcagc tattcttggta tcaattttgggt gcggcaggcg 120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggacgg atctttccccg gcgatgggta tactgactac 180
aatggaaat tcaagggcag agtcacaatt accggccgaca aatccactag cacagcctat 240
15 atggagctga gcagccctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagaaaatgtc 300
tttgatggtt actggcttgtt ttactggggc caggaaaccc tggtcaccgt ctccctca 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.

gatatcgta tgacccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gcccgccagc 60
 attagctgca ggtctagcaa gagcccttg cacagcaatg gcatcaactt ttgtattgg 120
 tacctgcaaa agccaggca gtctccacag ctccgtatt atcaaatgtc caaccgttc 180
 tctggcgtcc ctgaccgggtt ctccggatcc gggtcaggca ctgattcac actgaaaatc 240
 agcagggtgg aggctgagga tgttggagtt tattactgctc tcagaatct agaacttcct 300
 tacaccttcg gcggaggac 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
 IFPGDGDTDY NGKFGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARNV 100
 FDGYWLVYWG QGTLTVVSSA STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD 150
 YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSSVVTV PSSSLGTQTY 200
 ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK 250
 DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS 300
 TYRVVSVLTW LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV 350
 YTLPSSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESENQPE NNYKTTPPVL 400
 DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM 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.

DIVMTQTPLS LPVTPGEPAS ISCRSSKSLL HSNGITYLYW YLQKPGQSPQ 50'
 LLIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCAQNLELP 100'
 YTFGGGTKE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCN LNNFYPREAK 150'
 VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE 200'
 VTHQGLSSPV TKSFRNRGEC 219'

SEQ ID NO: 7:

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

CAGGTGCAATTGGTGCAGTCTGGCGCTGAAGTTAA
GAAGCCTGGGAGTTAGTGAAGGTCTCCIGCAAGG
CTTCCGGATACGCCCTCAGCTATTCTGGATCAATT
GGGTGCGGCAGGCCCTGGACAAGGGCTCGAGTG
GATGGGACGGATCTTCCCGCGATGGGGATACTG
ACTACAATGGGAAATTCAAGGGCAGAGTCACAATT
ACCGCCGACAAATCCACTAGCACAGCCTATATGGA
GCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGT
ATTACTGTGCAAGAAATGTCTTGA~~TGGT~~ACTGGC
TTGTTTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTCACCGTCT
CCTCA

SEQ ID NO: 8:

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

GATATCGTGTGACCCAGACTCCACTCTCCCTGCC
GTCACCCCTGGAGAGCCCCGCCAGCATTAGCTGCAG
GTCTAGCAAGAGCCTCTGCACAGCAATGGCATCA
CITATTGTATTGGTACCTGCAAAAGCCAGGGCAG
TCTCCACAGCTCCTGATTATCAAATGTCCAACCTT
GTCTCTGGCGTCCCTGACCGGTTCTCCGGATCCGGG
TCAGGCACTGATTACACTGAAAATCAGCAGGGT
GGAGGCTGAGGATGTTGGAGTTATTACTGCGCTC
AGAATCTAGAACTTCCTTACACCTTCGGCGGAGGG
ACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTG

SEQ ID NO: 9:

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

Rituximab heavy chain chimeric.
 QVQLQQPGAEIVKPGASVKMSCKASGYTFSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSY
 NQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDAVYYCARSTYYGGDQYFNWNGAGTTVTVS
 AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYPFPEPVTVSNNSGALTSGVHTFPALQSQ
 SGYLSLSSWTVPSPLLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKKAEPKSCOKTHFCPPCPAPEELLG
 GPSVFLFPPKPQIUTMISRTPEVTCVVVDVSHDPEVKFNWYDGVEVHNAAKTPREEQY
 NSTYRWSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNRAlPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRD
 ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTIIPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
 WQQGNVFSCSVMEAHNNHYTQKSLSLSPGK

- 15 SEQ ID NO: 10:

ES 2 933 256 T3

Secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de rituximab.

Rituximab light chain chimeric
QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVYTHWFQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPVR
FSGSGSGTTSYSLTISRVEADAATYYCQQWTSNPPFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTTL
SKADYEKHKVYACEVTQHQGLLSSPVTKSFNRGEC

5 SEQ ID NO:11:

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

(variante 1).

1 gggccgcggg ctgccagccc agggcgggac ggagccctac ttctggccga ccgcgttaggc
61 ggtgcttcaa cttagggtcg ctttgtggctg ggcaetcgcg cagaggccgg cccgacgagc
121 catggttgtc gggagcgacg cggggcgggc cctggggtc ctcagcgtgg tctgcctgtc
181 gcactgcttc ggtttcatca gctgttttc ccaacaata tatggtggtg tgtatggaa
241 tgtaactttc catgtaccaa gcaatgtgcc ttaaaagag gtcctatgga aaaaacaaaa
301 ggataaaagtgcagaactgg aaaattctga attcagagct ttctcatctt taaaaaatag
361 ggtttattta gacactgtgt caggtagcct cactatctac aacttaacat catcagatga
421 agatgagttat gaaatggat cgccaaatat tactgatacc atgaagttct ttctttatgt
481 gcttgagtct ctccatctc ccacactaac ttgtgcattt actaatggaa gcattgaagt
541 ccaatgcattt ataccagagc attacaacag ccatcgagga cttataatgt actcatggaa
601 ttgttcctatg gagcaatgtaa acgttaactc aaccagtata tattttaaaga tggaaaatgt
661 tcttccacaaa aaaatacagt gtactcttag caatccatta tttatcacaa catcatcaat
721 cattttgaca acctgtatcc caagcagcgg tcattcaaga cacagatata cacttataacc
781 cataccatttgcagtaatttta caacatgtat ttgtgtgtat atgaatggta ttctgaaatgt
841 tgacagaaaa ccagacagaa ccaactccaa ttgtatggta acagaagatg aagacaacag
901 cataactaaa ttattttaaa aactaaaaag ccatctgtt cttcatttta gtattacaat
961 ttttgaacaa ctgttggaaa tgtaacttgc agcagctgtc ttaagaagaa atacccacta
1021 acaaaqaaca aqcatatgtt ttggctgtca tczaacttatt atatgacttag gtgttgcct
1081 tttttgtcag taaaatgtttt ttactgtatgc tgtagataact tttgtaaata aatgtaaata
1141 tgtaacacaag tga

SEQ ID NO:12:

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

1 mvagsdagra lgv1svvcl1 hcfcgfcscfs qqiygvvygn vtfhvpsnvp lkevlwkqk
61 dkvaclense frafssfknr vyldtvsgsl tiynltssde deyemespni tdtmkfflyv
121 leslpsptlt caltngsiev qcjmipehyhs hrglimyswd cpmeqckrns tsiyfkemd
181 lpgkiqctls nplfnttssi ilttcipssg hsrhryalip iplavittci vlymngilkc
241 drkpndrtnsn

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 ggaaatcgat ctggaaaatcc tcctaattt tactccctct  
 61 ccccgcgact cctgatccat tgggaagttt caaatcagct ataactggag agtgctgaag  
121 attgatggga tcgttgcctt atgcatttgt tttggttta caaaaaggaa acttgacaga  
181 qqatcatgct gtacttaaaa aataacaacat cacagagqaa qtagactgat attaacaata
```

241 cttaactaata ataaacgtgcc tcatgaaata aagatccgaa aggaatttggg ataaaaattt
 301 cctgcacatctc atgc当地ggg gggaaacacca gaatcaagt tttccgc当地ga ttgaagacac
 361 cccctcgcc aagaatgcaa agcacatcca ataaaatagc tgattataa ctcctcttct
 421 ttctctgggg gccc当地ggg gggagctggg gccc当地ggg ccgttggcc ccgttgc当地
 481 tcctctggga aggatggcc acgctgggag aacagggtac gataaccggg agatagtgat
 541 gaagtagacatc cattataaagc tgc当地cgagag gggctacgag lgggatgc当地 gagatgtggg
 601 cggccgc当地ccce cccggggccg cccccc当地ccce gggcatctc tccctccagc cccggccacac
 661 gccccatcca gccc当地ccce gggacccggg tccccc当地ccce agacccccc当地
 721 tgc当地ccce gccc当地ccce ggc当地ccce ggc当地ccce cccccc当地ccce tccacctgac
 781 cctccgccc当地ccce gccc当地ccce acttctcccg ccccttcccg cccgacttccg cccgagatgtc
 841 cagccagctg cacccgtacgc ccttc当地ccce gccc当地ccce tttgccacgg tgggtggagga
 901 gctttcagg gacgggggtga acttggggggag gatttgc当地ccce ttctttgagtt tcgggtgggg
 961 catgtgtgtg gagagcgtca accgggagat gtc当地ccce gtc当地ccce tccccc当地ccce
 1021 gatgactgag tacccgtacgc ggc当地ccce ccccttcccg ccccttcccg cccgataacgg gaggtgg
 1081 tgc当地ccce gactgtacg gccc当地ccce gccc当地ccce tttgatttct cctggctgtc
 1141 tctgaagact ctgtc当地ccce tggcccttgg gggagcttcc atcaccctgg gtccctatct
 1201 gggccacaag tgaagtc当地ccce atgc当地ccce caaaacaalaa tgc当地ccce tcaactaaago
 1261 agtagaaata atatgc当地ccce tcaactgtatgt accatgaaac aaagctgc当地ccce gctgtttaag
 1321 aaaaaataac acacatataa acatcacaca cacagacaga cacacacaca cacaacaatt
 1381 aacagtcc local cccggggccg tccaaatccg tatttactgc caaaggggaa tatcatttat
 1441 tttttacatt attaagaaaa aaagatttat ttatccatccg cccggggccg aaaactccctg
 1501 tctttggaaa tccgaccact aattgc当地ccce ccccttcccg tttggctccca cctggatgtt
 1561 ctgtgc当地ccce aaacatagat tcccttccca ttttgc当地ccce cccggccctg tctgaagagc
 1621 agacggatgg aaaaaggacc tggcccttgg ggaagctggc tttctggctg ctggaggctg
 1681 gggagaagg gttccattcc tttccatttct ttggcccttgg ggttgc当地ccce ttaacagagg
 1741 gagggttcc tttggggggaa gttccattcc cccggccctg aagaagagac tctttgc当地ccce
 1801 tgactccat gatgc当地ccce tggggggagg aaaaaggatgg ggaacttc当地ccce atggacccctg
 1861 taccactga gatttccacg cc当地ccce gcaaggaca gccatggaa aatgc当地ccce aatcatagg
 1921 aaagtatttt tttaagctac caattgtgcc gagaaaagca ttttagcaat ttataacaata
 1981 tcatccagta cccatccatcc ttttgc当地ccce ttttggatacc gcacccccc当地ccce

ES 2 933 256 T3

2041 actcccaata ctggctctgt ctgagtaaga aacagaatcc tctggaaactt gaggaagtga
2101 acatttcggt gacttccgcg tcaggaaggc tagagttacc cagagcatca ggccgccaca
2161 agtgcctgt tttaggagac cgaagtcgcg agaacatgcg tgtgtcccg ctggaggcc
2221 tggtectgga actgagccgg ggcctcaact ggctctctcc agggatgatc aacagggcag
2281 tgggtctcc gaatgtctgg aagctgatgg agctcagaat tccactgtca agaaagagca
2341 gtagaggggt gtggctggc ctgtcacccct gggccctcc aggtaggccc gtttacggt
2401 ggagcatggg agccacgacc ctcttaaga catgtatcac tgttagggga aggaacagag
2461 gccctggcc ctccatca gaaggacatg gtgaaggctg ggaacgtgag gagaggcaat
2521 gccacggcc catttggct gtgcacalp ycacgttggc tgtgtggct tgcccacct
2581 gtgagttaa agcaaggctt taaatgacct tggagagggt cacaatcc aaaagaagca
2641 ttgaagttag gtgtcatgg ttaattgacc cctgtctatg gaattacatg taaaacatta
2701 tcttgtcaact gttagttgg tttatttga aacctgacaa aaaaaaagtt ccaggtgtgg
2761 aatatgggg tratctgtac atcctggggc attaaaaaaaaa aatcaatgg tgggaaacta
2821 taaaagaagta acaaaaagaag tgacatcttca agcaaataaa ctagaaatt ttttttctt
2881 ccagttaga atcagccttg aAACATTGAT ggaataactc tgtggcatta ttgcattata
2941 taccatttat ctgtattaaac tttggaaatgt actctgttca atgttaatg ctgtgggtiga
3001 tatttcgaaa gctgtttaa aaaaatacat gcacatcago gttttttgt ttttaattgt
3061 atttagttat ggcctataca ctatttgta gcaagggtga tcgtttctg tttgagatt
3121 ttatctcttg attcttcaaa agcatttga gaagggtgaga taagccctga gtcctcagct
3181 cctaagaaaa acctggatgt cactggccac tgaggagct ttttcaacc aagtcatgtg
3241 catttccacg tcaacagaat tttttattgt gacagttata tctgttgc tttgacccct
3301 gtttcttggaa gtttctctcg tccctggca attccgcatt taaticatgg tattcaggat
3361 tacatgcatt tttggtaaa cccatgagat tcattcagtt aaaaatccag atggccaaatg
3421 accagcagat tcaaatctat ggtgggttga ccttttagaga gttgtttac gtggccgtt
3481 tcaacacaga cccacccaga gccctctgc cctccttccg cgggggctt ctcatggctg
3541 tcttcaggg tcttcttggaa atgcagttgt gcttacgctc caccaagaaa gcaggaaacc
3601 tgggttatga agccagaccc ccccgccggg cctcaggaa cagaatgatc agacctttga
3661 atgattctaa ttttaagca aaatattatt ttatgaaaagg tttacattgt caaagtgtatg
3721 aatatggaa atccaatctt gtgtgtctat cctgccaaaa tcattttat ggaatcgtt
3781 tgcagttatgc tccacgttgt aagatctcc aagttgtttt agaagtaaca atgaagaacg
3841 tggacgttt taatataaag cctgtttgt cttttgttgt ttttcaaacg ggattcacag
3901 agtattttgaa aaatgttatat atattaagag gtcacggggg ctaattgtg gctggctgccc
3961 ttttgctgtg ggtttttgtt acctggttt aataacagta aatgtgcccc gcctcttggc
4021 cccagaactg tacagiattg tggctgeact tgctctaaga ttagttgtt ttgcattttc
4081 cttatgtta aaaacatgtt agaagcaatg aatgtatata aaagccctaa ctgttattt
4141 ttttctccctt ttctttttt tcatttataatc taattttttt gcagttggc aacagagaaac
4201 catccctatt ttgtattgaa gaggattca catgtcattc ttaactgtc tttatgaatg
4261 aaaaaacagt cctctgtatg tactctctt tacactggcc aggttgcag ttttttttt
4321 tatatgcact tccaaaattt gggacaaggc etctaaaaaa agccccaaaa ggagaagaac
4381 atctgagaac ctccctggcc ctcccagcc ctgtgtgcac aaatactccg caagagaggc
4441 cagaatgaca gtcacagggg tctatggca tgggttgtc tccgaagatt tgccaggggc
4501 agaaaaactt ggcaggctt agatttgaa taaagtccaa gaattaagga agcacccctae
4561 tttagttaaa acaagacgccc aacattctt ccacagctca cttaacctc ttttttttt
4621 tggcccttc catttatatg tgatctttgt tttatttagta aatgttataatc atctaaagat
4681 gtagctctgg cccagtgaaa aaaatttagga agtGattata aatcgagagg agt:tataata
4741 atcaagattt aatgtaaaata accaggccaa tcccaacaca ttttttttttttttttt
4801 gatctatttgta gtgaacagaa ttgcaatag tctctattttt ttttttttttttttt
4861 caaatgtttt ataaatgtga actttaaactc taattttttt ttttttttttttttt
4921 tggctgttt tagactttct ttt
4981 aaaaaacaga aaggcccgaa atacaaggcc ttttttttttttttttttttttttttttt
5041 tctattctga tcttattctg tgggtgtttt ttttttttttttttttttttttttttt
5101 ttaagaaat acaattctac attgtcaage ttttttttttttttttttttttttttt
5161 tattcaattt ggatcttca gggatttttttttttttttttttttttttttttttt
5221 gttggagggg tgggagggag gaagaatttt taaatgtaaa acattcccaa gtttggatca
5281 gggagttgga agtttccaga ataaccagaa ctaagggtat gaaggacccctg ttttttttt
5341 gatgtgtatgc ctctgcgaa aacccctgtgt gacaaatgtg aacacatttttgg
5401 tacgaccctt agatccaga gacatcagca tggctcaaaag ttttttttttttttt
5461 caatggtata aatttcaagc tggatatgtc taatgggtat ttttttttttttttt
5521 ttaacttaac aggatattta atgacaaccc ttttttttttttttttttttttttttt

ES 2 933 256 T3

5581 gtttattatg tacaatacag aaaaaaattt tataaaatta agcaatgtga aactgaattg
5641 gagagtata atacaagtcc tttagtctta cccagtgaat cattctgttc catgtcttg
5701 gacaaaccatg accttggaca atcatgaaat atgcatttca ctggatgcaa agaaaatcag
5761 atggagcatg aatggtaactg tacceggttca tctggactgc cccagaaaaa taacttcaag
5821 caaacatctt atccaacaaca aggttgttct gcataccaag ctgagcacag aagatggaa
5881 cactgggtgaa ggatggaaag gtcgcetcaa tcaagaaaaat tctgagacta ttaataaata
5941 agactgttgt gttagatactg agttaaatcca tgcacccaaa cctttggaa aatctgccgt
6001 gggcccttcca gatagctcat ttcatattaatg tttccctcc aaggtagaaat ttgcaagagt
6061 gacagtggat tgcattttt ttggggaaago tttctttgg tggtttgtt tattatacct
6121 tcttaagttt tcaaccaagg tttgttttq tttttaggtt ctggggttat ttttgggg
6181 aataaaaata agtgtacaat aagtgtttt gtattggaaag cttttgttat caagattttc
6241 atacttttac cttccatggc tcttttaag attgataactt taaagaggtg gctgatattc
6301 tgcacacactg tacacataaa aaatacggtt aggataactt acatggttaa ggtaaagtaa
6361 gtctccagtt gccaccaatt agctataatg gcacttigt tttttttttt gaaaaagtc
6421 cattgccatt aaacttctt tgcattgtcta gttaatattt 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 yklisqrgyew dagdvgaapp gaapapgifs sqpghtphpa
61 asrdpvarts plqtpaapga aagpalspvp pvvhltlrqa gddfsrrryrr dfaemssqlh
121 ltpftargrf atvveelfrd gvnwgrivaf fefggvmcve svnremsplv dnialwmtey
181 lnrhlihtwiq dnggwadafve lygpsmrplf dfswlslktl lslalvgaci tlgaylghk

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> F. Hoffmann-La Roche AG
NanoString Technologies, Inc.

10 <120> Tratamiento con obinutuzumab de un subgrupo de pacientes con LDLBG novedoso
<130> AA1470 PCT S3

15 <150> US62/542.489
<151> 08/08/2017
<160> 14

20 <170> BiSSAP 1.3
<210> 1
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

25 <220>
<223> La región variable de la cadena pesada de obinutuzumab; polipéptido quimérico murino-humano

30 <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

35 <210> 2
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

40 <220>
<223> La región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab; polipéptido quimérico murino-humano

45 <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

ES 2 933 256 T3

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 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 químérico murino-humano

15 <400> 3
 caggtgcaat tggcgcagtc tggcgctgaa gttaagaagc ctgggaggttc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cttccggata cgccttcagc tattcttgaa tcaattgggt gcggcaggcg 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggacgg atcttcccg gcgatgggta tactgactac 180
 aatggaaat tcaagggcag agtcacaatt accgcccaca aatccactag cacagcctat 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagaaatgtc 300
 tttgatggtt actggcttgtt ttactggggc cagggAACCC tggcacccgt ctccctca 357

20 <210> 4
 <211> 345
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab; ADN químérico murino-humano

30 <400> 4
 gatatcgtga tgaccaggac tccactctcc ctgccccgtca cccctggaga gcccggccagc 60
 attagctgca ggtcttagcaa gagcctcttg cacagcaatg gcatcactta tttgtattgg 120
 tacctgcaaa agccaggggca gtctccacag ctcctgattt atcaaatgtc caaccttgc 180
 tctggcgtcc ctgaccgggtt ctccggatcc gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240
 agcagggtgg aggctgagga tggggagtt tattactgcg ctcagaatct agaacttcct 300
 tacaccttcg gcggaggggac caaggtggag atcaaacgta cggtg 345

35 <210> 5
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> la cadena pesada de obinutuzumab

40 <400> 5
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

ES 2 933 256 T3

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

ES 2 933 256 T3

<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 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
5           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 tggtgcaagtc tggcgctgaa gttaagaagc ctgggaggttc agtgaaggtc      60
tcttgcaagg cttccggata cgccttcagc tattcttggg tcaattgggt gggcaggcgc      120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggacgg atcttcccc gcatggggta tactgactac      180
aatggaaat tcaagggcag agtcacaatt accgcccaca aatccactag cacagcctat      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagaaatgtc      300
tttgatgggtt actggcttgt ttactgggc cagggAACCC tggtcaccgt ctccctca      357

```

20 <210> 8

<211> 345

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> secuencia de ácido nucleico que codifica la región variable de la cadena ligera KV1 de obinutuzumab

ES 2 933 256 T3

<400>	8		
gatatcgtga tgaccagac tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccccccagc		60	
attagctgca ggtctagcaa gagcctcttg cacagcaatg gcatcactta tttgtattgg		120	
tacctgcaaa agccagggca gtctccacag ctcctgattt atcaaatgtc caaccttgc		180	
tctggcgtcc ctgaccgggtt ctccggatcc gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc		240	
agcagggtgg aggctgagga tgttggagtt tattactgcg ctcagaatct agaacttcct		300	
tacaccctcg gcggagggac caaggtggag atcaaacgta cggtg		345	
5	<210>	9	
<211>	451		
<212>	PRT		
<213>	Secuencia artificial		
10	<220>		
<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 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	

ES 2 933 256 T3

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

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> la cadena ligera de rituximab

10 <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 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

15 <213> Homo sapiens

ES 2 933 256 T3

<400>	11					
gggcccggg	ctgcacagccc	aggcggggc	ggagccctac	ttctggccga	ccgcgttaggc	60
ggtgcttcaa	cttagggctg	cttgtggctg	ggcaactcgcg	cagaggccgg	cccgacgagc	120
catggttgt	gggagcgacg	cggggcgggc	cctgggggtc	ctcagcgtgg	tctgcctgt	180
gcactgctt	ggttcatca	gctgttttc	ccaacaaata	tatggtgtt	tgtatggaa	240
tgttaacttc	catgtaccaa	gcaatgtgcc	tttaaaagag	gtcctatgga	aaaaacaaaa	300
ggataaaagt	gcagaactgg	aaaattctga	attcagagct	ttctcatctt	ttaaaaatag	360
ggtttattt	gacactgtgt	caggtagcct	cactatctac	aacttaacat	catcagatga	420
agatgagtat	gaaatggaat	cgc当地at	tactgatacc	atgaagttct	ttctttatgt	480
gcttgagtct	cttccatctc	ccacactaac	tttgtgcattt	actaatggaa	gcattgaagt	540
ccaatgcatg	ataccagagc	attacaacag	ccatcgagga	cttataatgt	actcatggga	600
ttgtcctatg	gagcaatgta	aacgtaactc	aaccagtata	tatTTTaa	tggaaaatga	660
tcttccacaa	aaaatacagt	gtactcttag	caatccatta	tttaatacaa	catcatcaat	720
cattttgaca	acctgtatcc	caagcagcgg	tcattcaaga	cacagatatg	cacttataacc	780
cataccatta	gcagtaatta	caacatgtat	tgtgctgtat	atgaatggta	ttctgaaatg	840
tgacagaaaa	ccagacagaa	ccaaactccaa	ttgattggta	acagaagatg	aagacaacag	900
cataactaaa	ttatTTTaaa	aactaaaaag	ccatctgatt	tctcatttga	gtattacaat	960
ttttgaacaa	ctgttggaaa	tgtaacttga	agcagctgct	ttaagaagaa	atacccacta	1020
acaaaagaaca	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				

ES 2 933 256 T3

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

5	<210>	13	
	<211>	6492	
	<212>	ADN	
	<213>	Homo sapiens	
	<400>	13	
	tttctgtgaa	gcagaagtct	60
	gggaatcgat	ctggaaatcc	
	tcctaatttt	tactccctct	
	cccccgact	cctgattcat	120
	tgggaagttt	caaatcagct	
	ataactggag	agtgctgaag	
	attgatggga	tcgttgcctt	180
	atgcatttgt	tttggtttta	
	caaaaaggaa	acttgacaga	
	ggatcatgct	gtacttaaaa	240
	aataacaacat	cacagaggaa	
	gtagactgat	attaacaata	
	cttactaata	ataacgtgcc	300
	tcatgaaata	aagatccgaa	
	aggaatttgg	ataaaaattt	
	cctgcatctc	atgccaaggg	360
	ggaaacacca	aatcaagtg	
	ttccgcgtga	ttgaagacac	
	cacctcgcc	aagaatgcaa	420
	agcacatcca	ataaaatagc	
	tggattataa	ctcctttct	
	ttctctgggg	gccgtggggt	480
	gggagctggg	gcgagaggtg	
	ccgttggccc	ccgttgcttt	
	tcctctggga	aggatggcgc	540
	acgctggag	aacagggtac	
	gataaccggg	agatagtgtat	
	gaagtacatc	cattataagc	600
	tgtcgagag	ggctacgag	
	tggtatgcgg	gagatgtggg	
	cggccgcgcc	ccggggcccg	660
	ccccccgcacc	ggcatcttc	
	tcctcccagc	ccgttggccc	
	ccgggcacac	ccctctttct	
	gccccatcca	gggacccgg	720
	cgccaggacc	tcggcgctgc	
	agacccggc	agacccggc	
	tgccccccggc	gccggccgcgg	780
	ggcctgcgt	cagccgggtg	
	ccacctgtgg	tccacctgac	
	cctccgcccag	gcccggcagc	840
	acttctcccc	ccgcttaccgc	
	cgcgacttgc	ccgagatgtc	
	cagccagctg	cacctgacgc	900
	ctttacccgc	gcggggacgc	
	tttgccacgg	tggtgagga	
	gctcttcagg	actggggag	960
	gattgtggcc	ttctttgagt	
	tcgggtgggt	tcgggtgggt	
	catgtgtgt	gagagcgtca	1020
	accgggagat	gtcgccccctg	
	gtggacaaca	gtggacaaca	
	tcggccctgt	tcggccctgt	
	gatgactgag	tacctgaacc	1080
	ggcacctgca	cacctggatc	
	caggataacg	caggataacg	
	gaggctggga	gaggctggga	
	tgcctttgtg	gaactgtacg	1140
	gccccagcat	gcggcctctg	
	tttgatttct	cctggctgtc	

ES 2 933 256 T3

tctgaagact ctgctcagtt tggccctggt gggagcttgc atcaccctgg gtgcctatct	1200
gggccacaag tgaagtcaac atgcctgccc caaacaaata tgcaaaaggt tcactaaagc	1260
agtagaaata atatgcattg tcagtatgt accatgaaac aaagctgcag gctgtttaag	1320
aaaaaataac acacatataa acatcacaca cacagacaga cacacacaca cacaacaatt	1380
aacagtcttc aggcaaaacg tcgaatcagc tatttactgc caaaggaaa tatcatttat	1440
tttttacatt attaagaaaa aaagatttat ttatttaaga cagtcccattc aaaactcctg	1500
tctttggaaa tccgaccact aattgccaag caccgctcg tgtggctcca cctggatgtt	1560
ctgtgcctgt aaacatagat tcgctttcca tgggttggc cgatcacca tctgaagagc	1620
agacggatgg aaaaaggacc tgatcattgg ggaagctggc tttctggctg ctggaggctg	1680
gggagaaggt gttcattcac ttgcatttct ttgccttggg ggctgtgata ttaacagagg	1740
gagggttcct gtggggggaa gtccatgcct ccctggcctg aagaagagac tctttgcata	1800
tgactcacat gatgcataacc tgggtggagg aaaagagttg ggaacttcag atggacctag	1860
tacccactga gatttccacg ccgaaggaca gcgatggaa aaatgccctt aaatcatagg	1920
aaagtatttt tttaagctac caattgtgcc gagaaaagca ttttagcaat ttatacaata	1980
tcatccagta ccttaagccc tgattgtgta tattcatata ttttgatac gcacccccc	2040
actcccaata ctggctctgt ctgagtaaga aacagaatcc tctggactt gaggaagtga	2100
acatttcggt gacttccgca tcaggaaggc tagagttacc cagagcatca gcccgcaca	2160
agtgcctgct ttaggagac cgaagtccgc agaacctgcc tgtgtcccag cttggaggcc	2220
tggctctgga actgagccgg ggcctcaact ggcctctcc agggatgatc aacagggcag	2280
tgtggctcc gaatgtctgg aagctgatgg agctcagaat tccactgtca agaaagagca	2340
gtagaggggt gtggctggc ctgtcacctt gggccctcc aggtaggccc gtttacgt	2400
ggagcatggg agccacgacc cttcttaaga catgtatcac tgtagagggaa aggaacagag	2460
gccttggcc cttccatca gaaggacatg gtgaaggctg ggaacgtgag gagaggcaat	2520
ggccacggcc cattttggct gtagcacatg gcacgttgc tgtgtggct tggccacct	2580
gtgagttaa agcaaggctt taaatgactt tggagagggt cacaatcct aaaagaagca	2640
ttgaagttagt gtgtcatgga ttaattgacc cctgtctatg gaattacatg taaaacatta	2700
tcttgcact gtagttgggt ttatggaa aacctgacaa aaaaaagtt ccaggtgtgg	2760
aatatggggg ttatctgtac atcctggggc attaaaaaaaaaa aatcaatgg tggggacta	2820
taaagaagta aaaaaagaag tgacatcttc agcaaataaa ctaggaaatt ttttttctt	2880
ccagttaga atcagccttg aaacattgtat ggaataactc tgtggcatta ttgcattata	2940
taccatatt ctgtattaaac tttggaatgt actctgttca atgtttatg ctgtgggtga	3000
tatccgaaa gctgcttaa aaaaatacat gcatctcagc gttttttgt ttttaattgt	3060

ES 2 933 256 T3

attttagtat ggcctataca ctatttgta gcaaaggta tcgtttctg tttgagattt
ttatctttt attcttcaaa agcattctga gaaggta gaga taagccctga gtctcagcta
cctaagaaaa acctggatgt cactgccac tgaggagctt tgttcaacc aagtcatgtg
catttccacg tcaacagaat tgtttattgt gacagttata tctgttgccc ctttgacctt
gtttcttgaa gtttcctcg tccctggca attccgcatt taattcatgg tattcaggat
tacatgcatg ttggtaaaa cccatgagat tcattcagtt aaaaatccag atggcaaatg
accagcagat tcaaatatc ggtggttga ctttagaga gttgcttac gtggcctgtt
tcaacacaga cccacccaga gccctcctgc ctccttcgg cggggcttt ctcatggctg
tccttcaggg tcttcctgaa atgcagtggt gcttacgctc caccaagaaa gcagggaaacc
tgtggtatga agccagaccc ccccgccggg ctcaggaa cagaatgatc agaccttga
atgattctaa ttttaagca aaatattatt ttatgaaagg tttacattgt caaatgtatg
aatatgaaat atccaatcct gtgctgctat ctcgcacaaa tcatttaat ggagtcagtt
tgcagttatgc tccacgtggt aagatcctcc aagctgctt agaagtaaca atgaagaacg
tggacgtttt taatataaaag cctgtttgt ctttgggtgt tgttcaaacg ggattcacag
agtattgaa aaatgtatata atattaagag gtcacgggg ctaattgctg gctggctgcc
tttgctgtg gggtttgtt acctgtttt aataacagta aatgtgcacca gcctcttggc
cccaagaactg tacagtattt gggctgact tgctctaaga gtagttgatg ttgcattttc
cttattgtta aaaacatgtt agaagcaatg aatgtatata aaaggctcaa ctatgcattt
tttcttcctc ttctttttt tcattatatc taattttttt gcagttggc aacagagaac
catccctatt ttgtattgaa gagggattca catctgcattc ttaactgctc tttatgaatg
aaaaaaacagt cctctgtatg tactcctctt tacactggcc agggtcagag taaaatagag
tatatgcact ttccaaattt gggacaagg ctctaaaaaa agccccaaaa ggagaagaac
atctgagaac ctccctggcc ctcccagtcc ctcgctgcac aaatactccg caagagagggc
cagaatgaca gctgacaggg tctatggcca tcgggtcgctc tccgaagatt tggcaggggc
agaaaaactct ggcaggctt agattggaa taaagtccaca gaattaagga agcacctcaa
tttagttcaa acaagacgccc aacattctt ccacagctca cttacctctc tgtgttcaga
tgtggccttc catttatatg tgatcttgc tttatttagta aatgcttatac atctaaagat
gtagctctgg cccagtggaa aaaatttagga agtgattata aatcgagagg agttataata
atcaagatta aatgtaaata atcaggccaa tcccaacaca tgtctagctt tcacccctc
gatctattga gtgaacagaa ttgcaaatag tctctatttg taattgaact tttcctaaaa
caaataqttt ataaatotqa acttaaactc taattaatc caactqtact tttaaqqcaq
4920

ES 2 933 256 T3

tggctgtttt tagactttct tatactttat agtttagtaat gtacacctac tctatcagag	4980
aaaaacagga aaggctcgaa atacaagccca ttctaaggaa attagggagt cagttgaaat	5040
tctattctga tcttattctg tgggtgtttt tgccagccag acaaatgtgg ttacacactt	5100
tttaagaaat acaattctac attgtcaagc ttatgaaggt tccaaatcaga tctttattgt	5160
tattcaattt ggatcttca gggattttt ttttaaatta ttatggaca aaggacattt	5220
gttggagggg tgggaggggag gaagaatttt taaatgtaaa acattccaa gtttggatca	5280
gggagttgga agtttcaga ataaccagaa ctaagggtat gaaggacctg tattggggtc	5340
gatgtgatgc ctctgcgaag aaccttgtt gacaaatgag aaacattttt aagtttggat	5400
tacgaccttt agattccaga gacatcagca tggctcaaag tgcagctccg tttggcagtg	5460
caatggtata aatttcaagc tggatatgtc taatgggtat taaaacaata aatgtgcagt	5520
tttaactaac aggatattta atgacaacct tctgggttgtt agggacatct gtttctaaat	5580
gtttattatg tacaatacag aaaaaaattt tataaaatta agcaatgtga aactgaattt	5640
gagagtgata atacaagtcc tttagtctta cccagtgaat cattctgttc catgtctttt	5700
gacaaccatg accttggaca atcatgaaat atgcattctca ctggatgcaa agaaaatcag	5760
atggagcatg aatggtactg taccgggttca tctggactgc cccagaaaaa taacttcaag	5820
caaacatcct atcaacaaca aggttggatgc gcataccaag ctgagcacag aagatggaa	5880
cactgggttga ggatggaaag gtcgcgttca tcaagaaaat tctgagacta ttaataaaata	5940
agactgttgtt gtagatactg agtaaatcca tgcacctaaa cctttggaa aatctgccgt	6000
ggggccctcca gatagctcat ttcattaaat tttccctcc aaggtagaat ttgcaagagt	6060
gacagtggat tgcatttctt ttggggaaagc tttctttgg tggttttgtt tattataacct	6120
tcttaagttt tcaaccaagg tttgttttgg ttttgaggta ctgggggttat tttgtttta	6180
aataaaaata agtgtacaat aagtgtttt gtattgaaag cttttgttat caagattttc	6240
ataacttttac cttccatggc tcttttaag attgatactt ttaagaggtg gctgatattc	6300
tgcaacactg tacacataaa aaatacggta aggatacttt acatggtaa ggtaaagtaa	6360
gtctccagtt ggccaccatt agctataatg gcactttgtt tgggtttgtt gaaaaagtca	6420
cattgccatt aaactttcct tgcgtgtcta gttaatattt tgaagaaaaa taaagtacag	6480
tgtgagatac tg	6492

<210> 14

<211> 239

5 <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 aminoacídicos 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 aminoacídicos 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 (LDLBG) 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 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 *BCL2* translocada y/o un paciente con LDLBG 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 LDLBG 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. 10. El anticuerpo para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicha LPS es ≤ 1100 .

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

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

25. 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.

30. 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.

35. 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.

40. 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.

45. 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.

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

55. 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.

60. 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.

65. 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.

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

55. 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.

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

65. 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 LDLBG 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

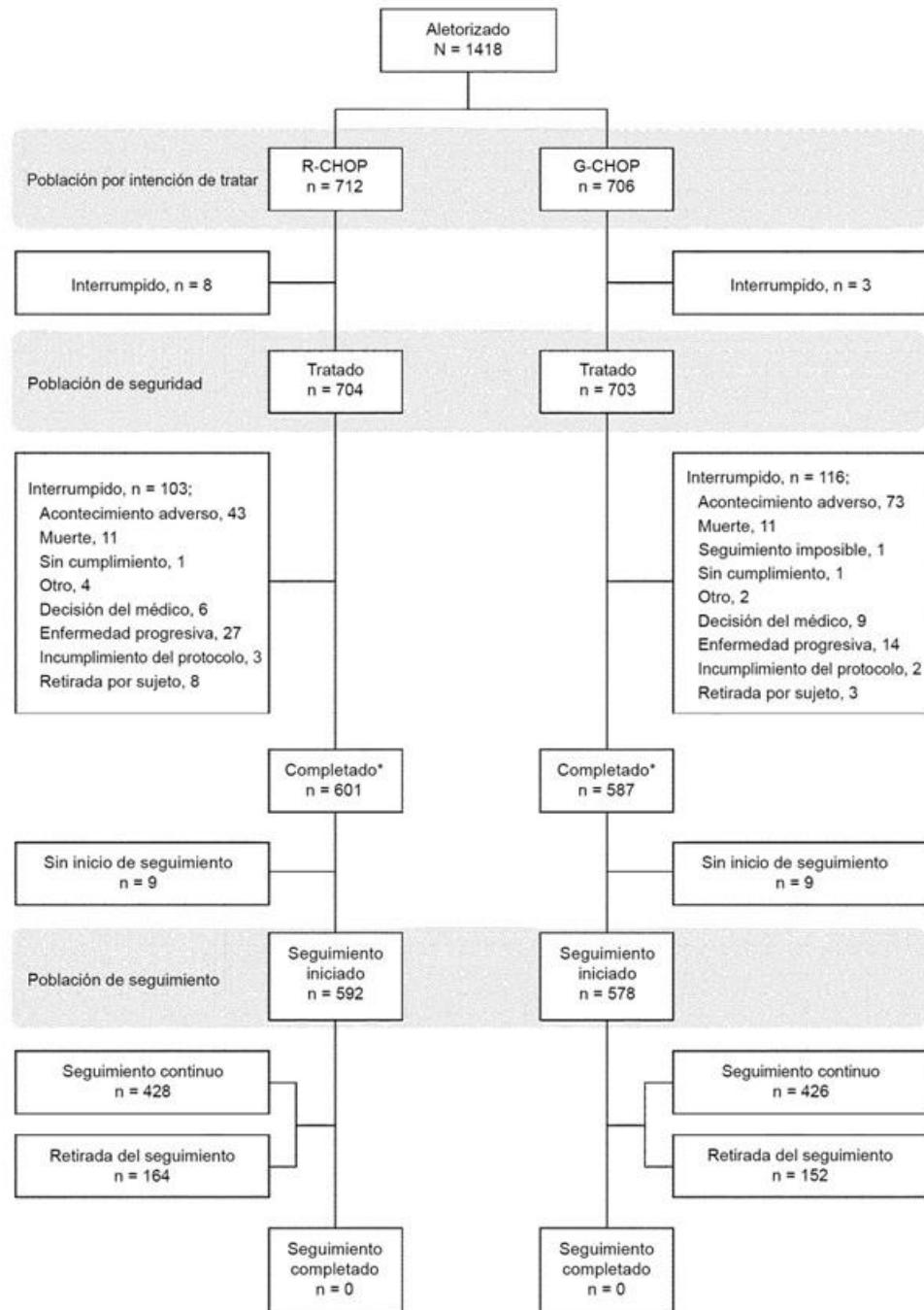
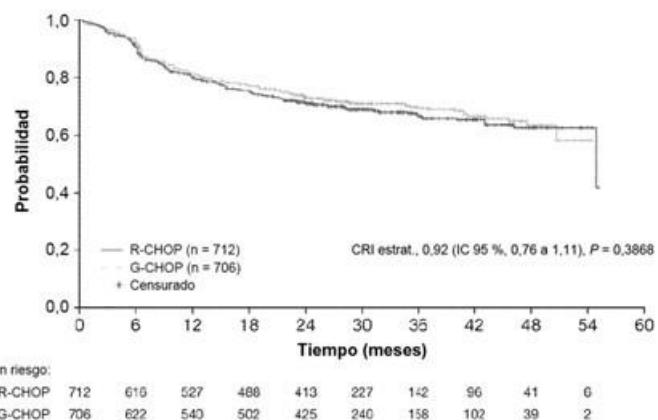
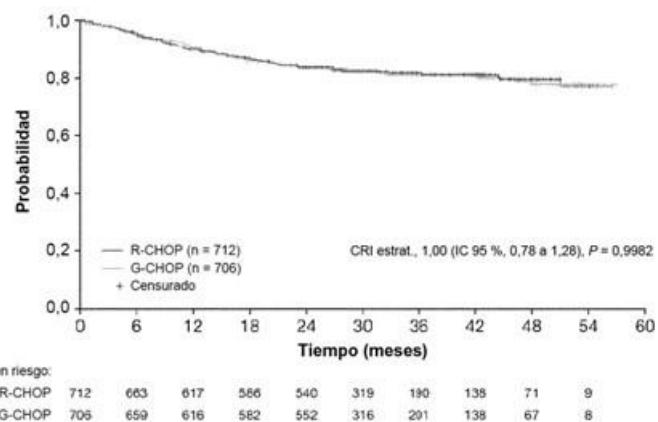


Figura 2

A



B



C

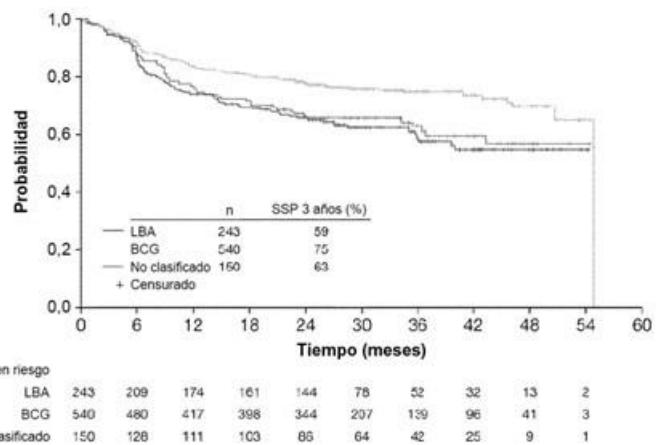
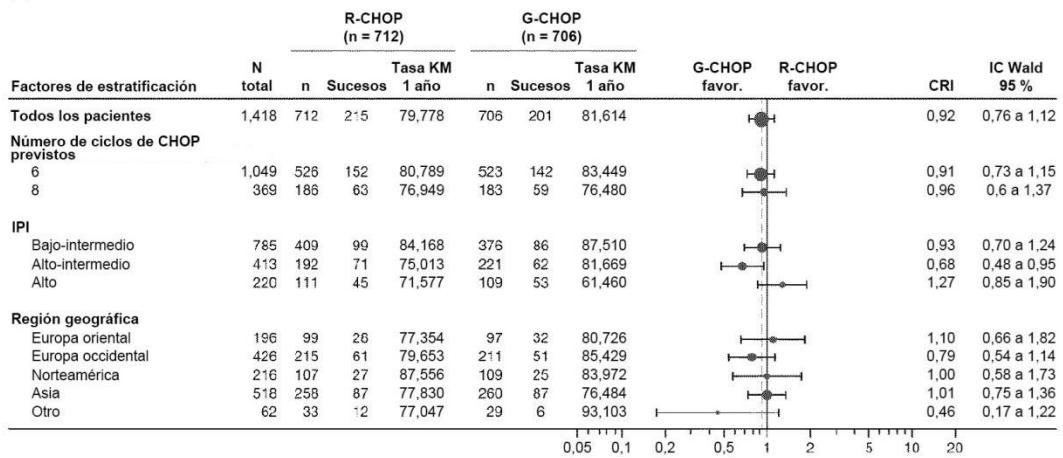


Figura 3

A



B

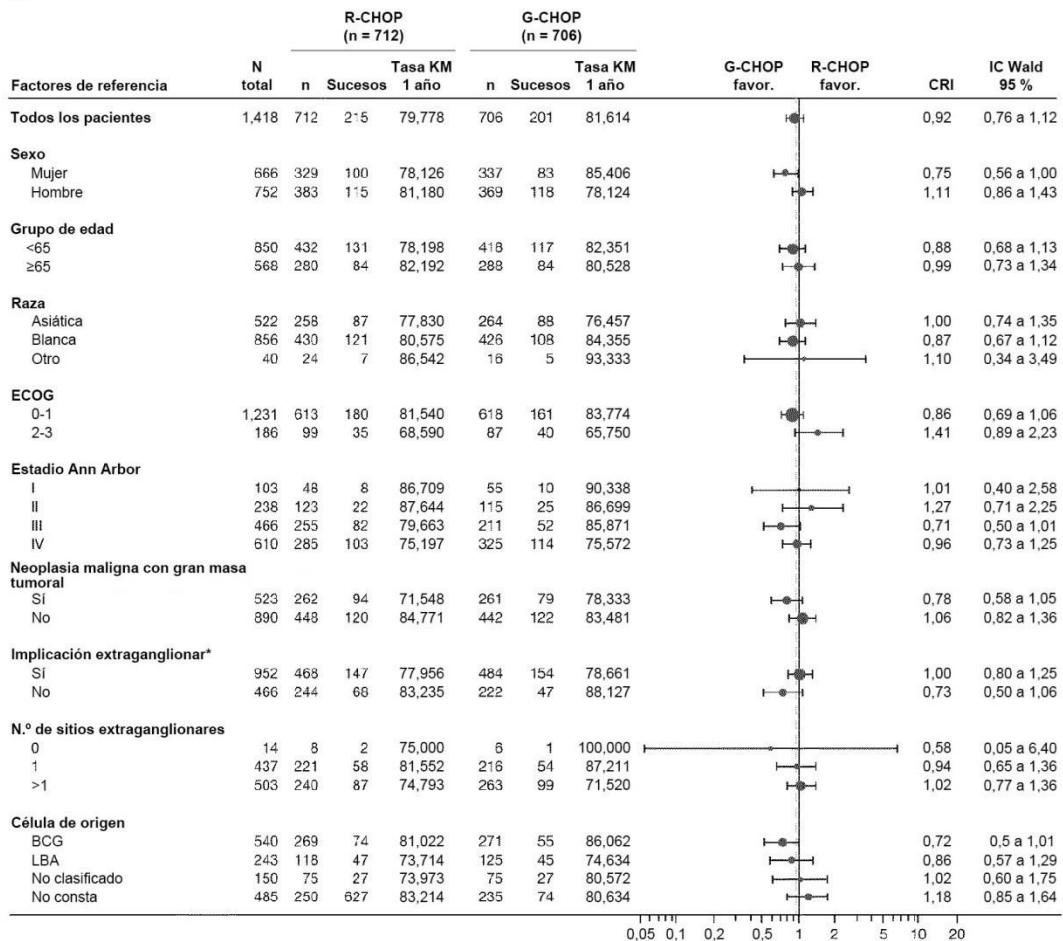
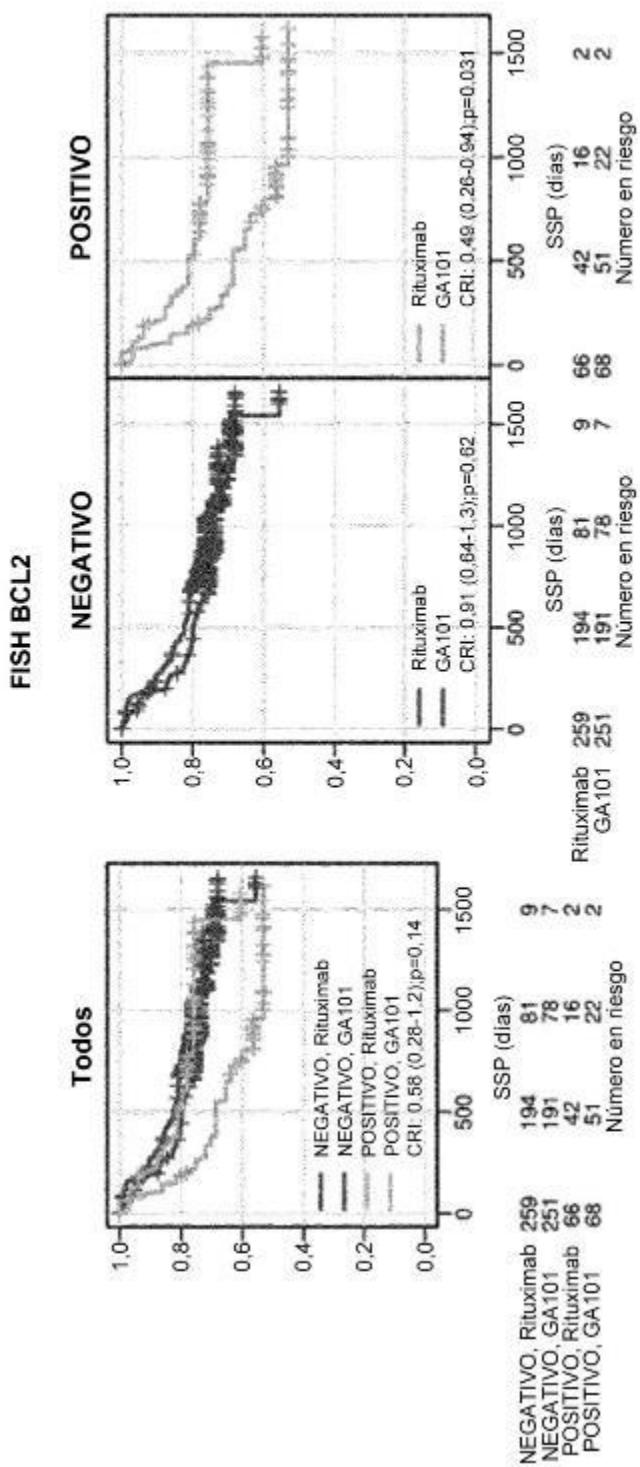


Figura 4



ES 2 933 256 T3

Figura 5

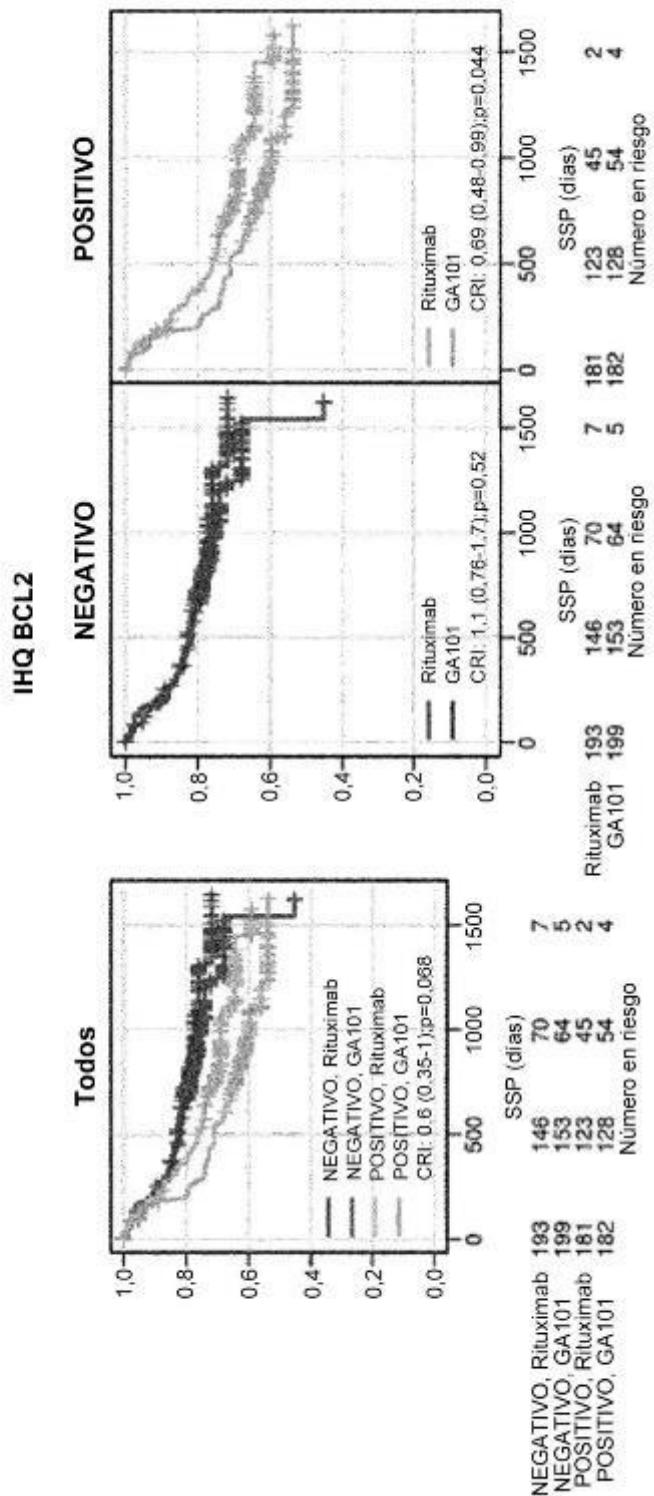


Figura 6

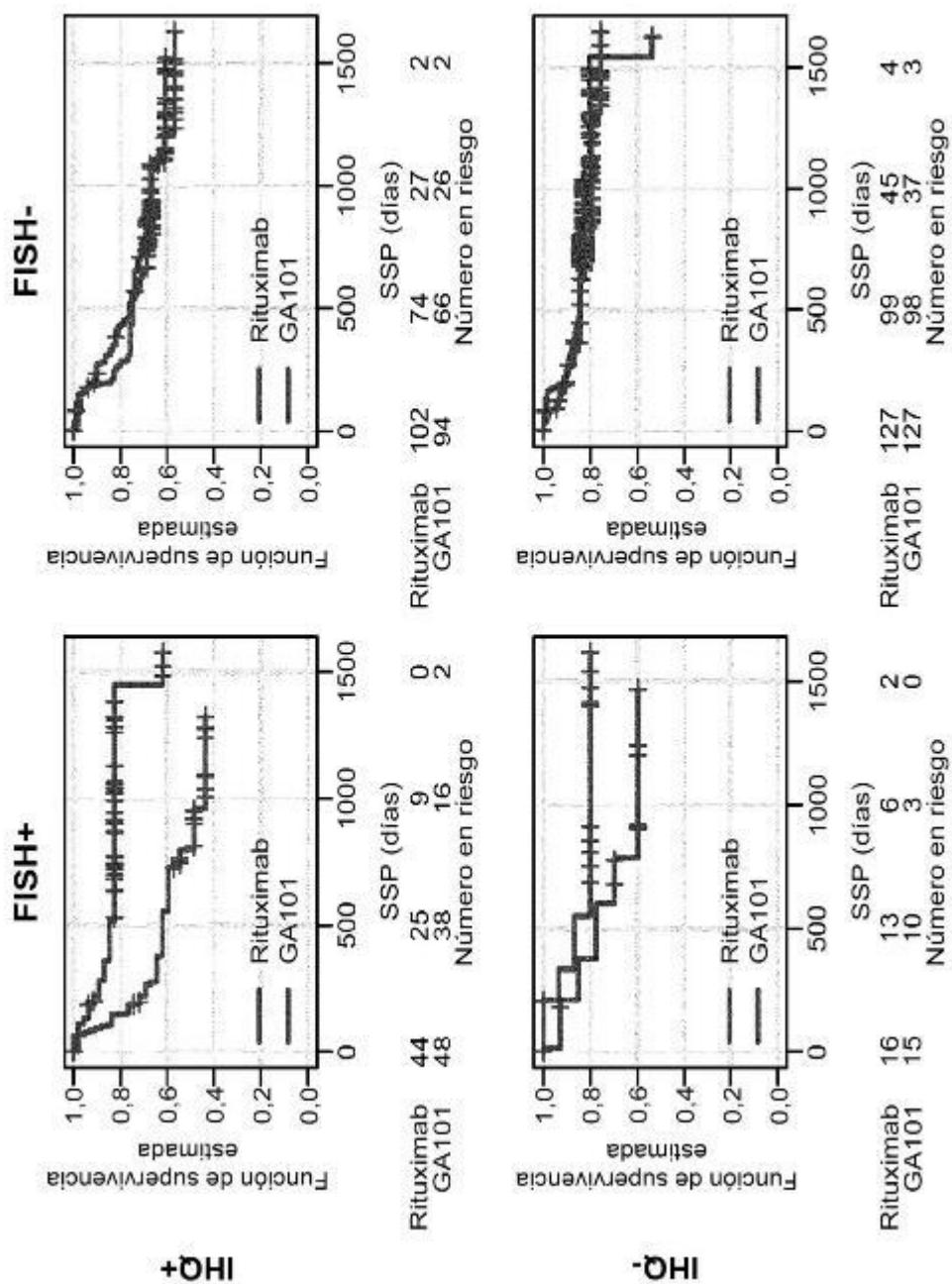


Figura 7A

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

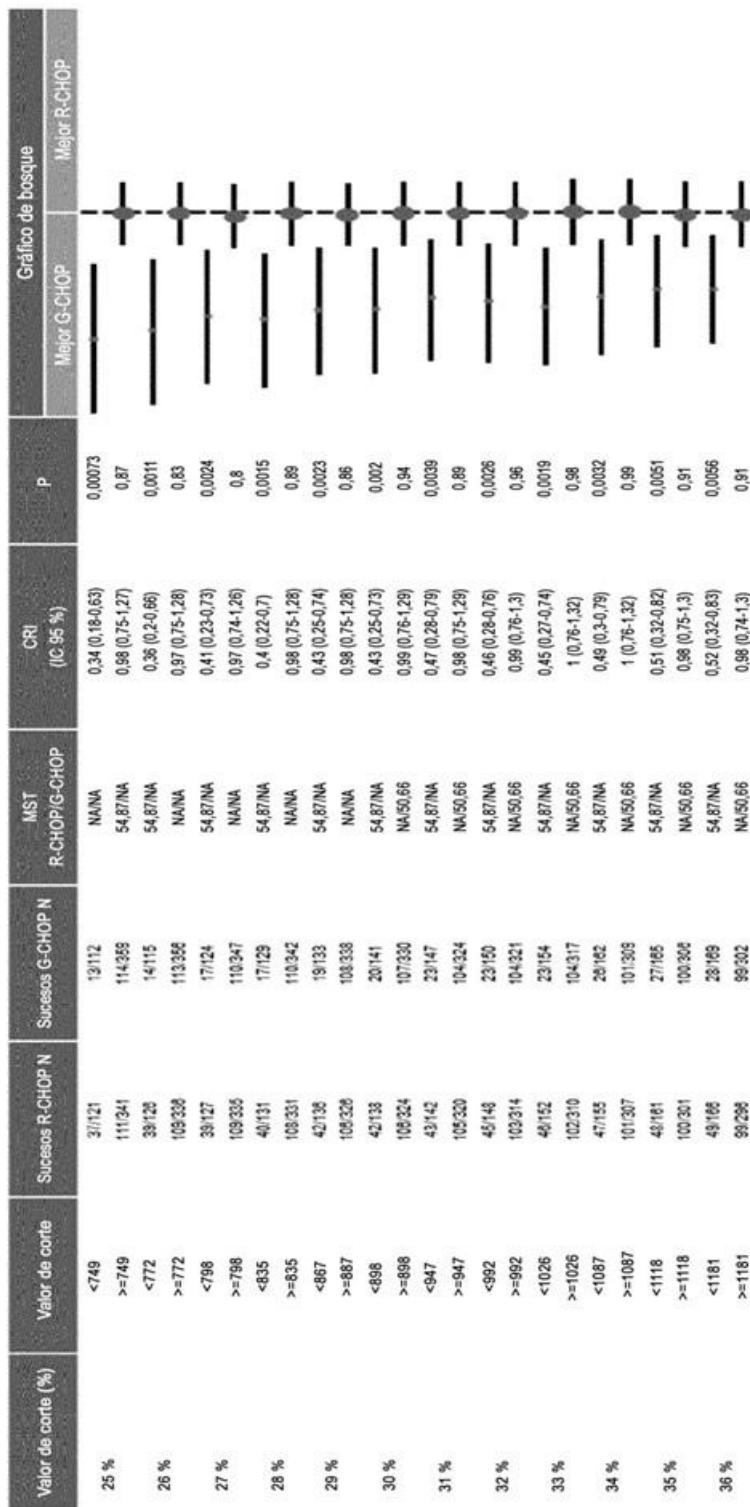


Figura 7B

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

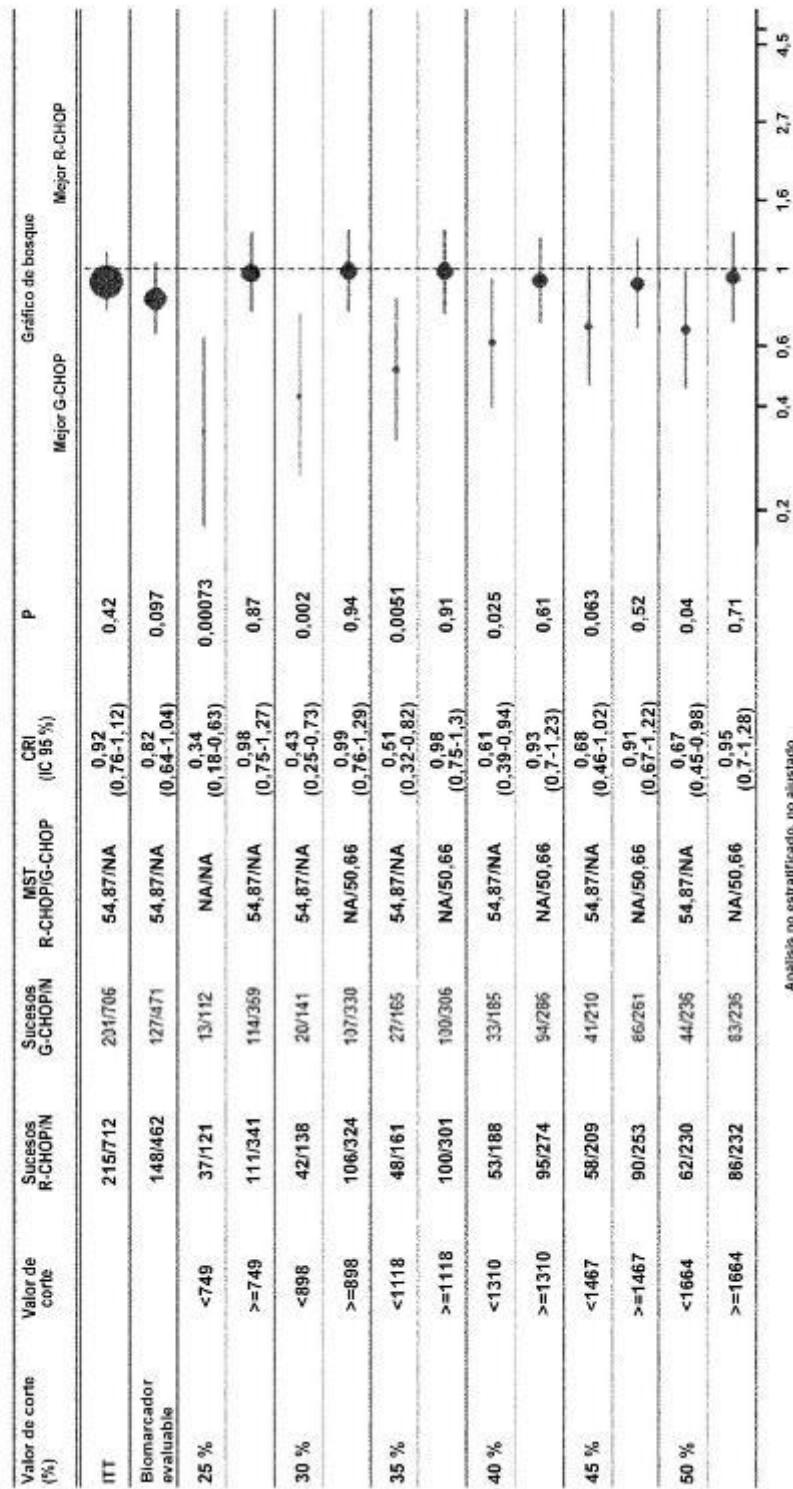
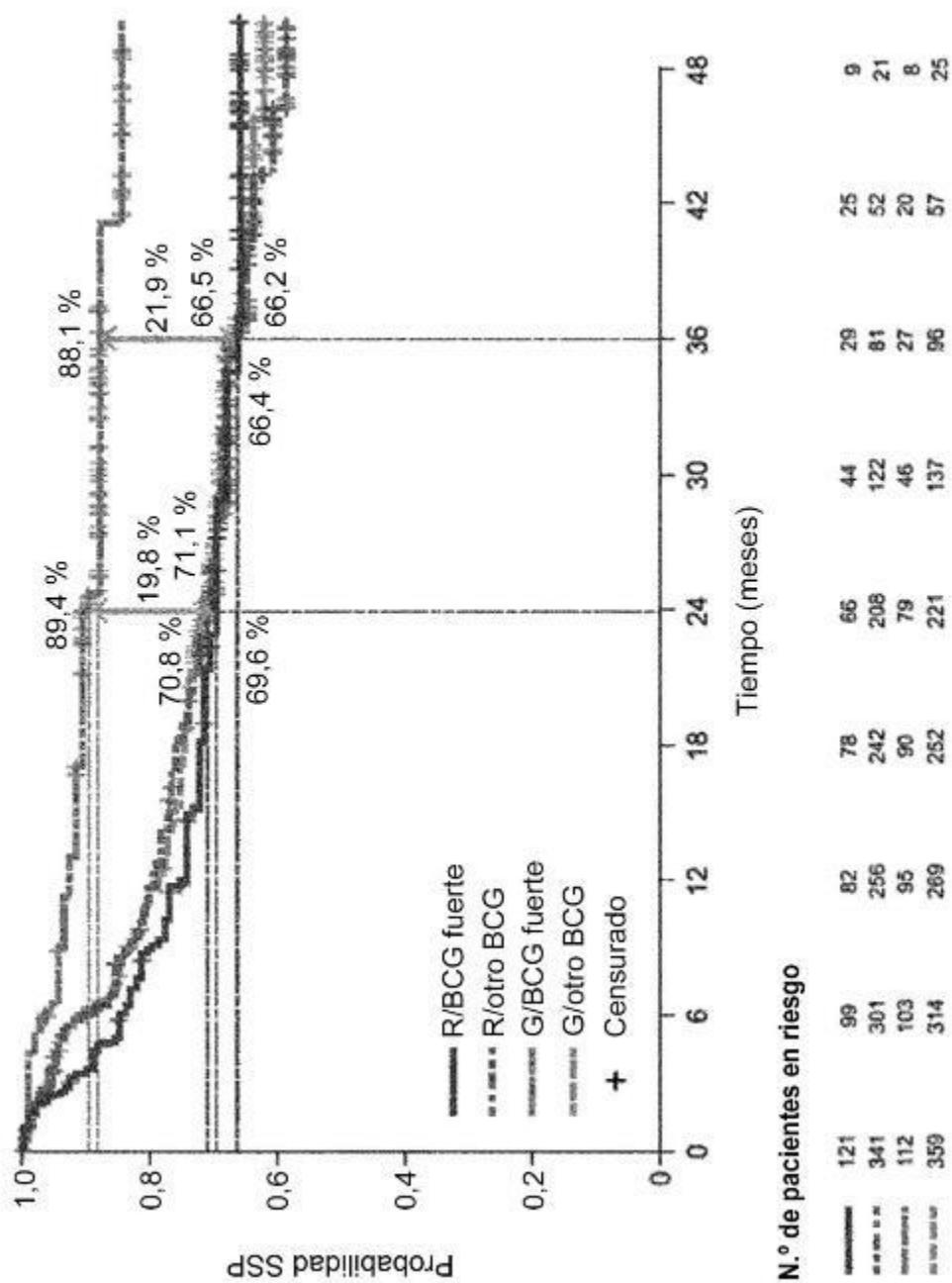


Figura 7C



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

ES 2 933 256 T3

Figura 8

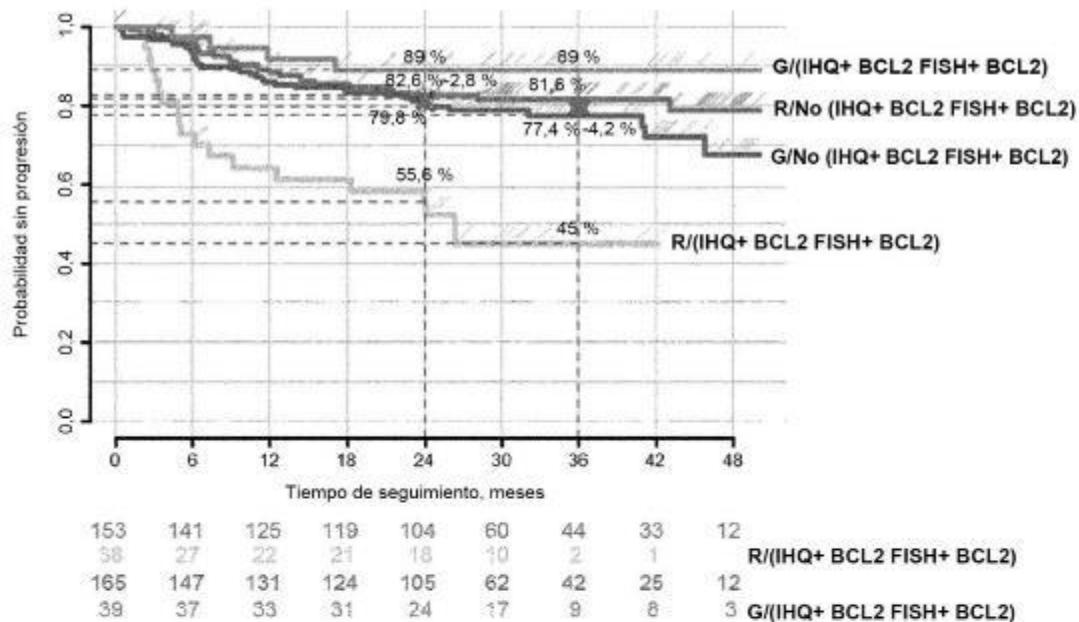


Figura 9

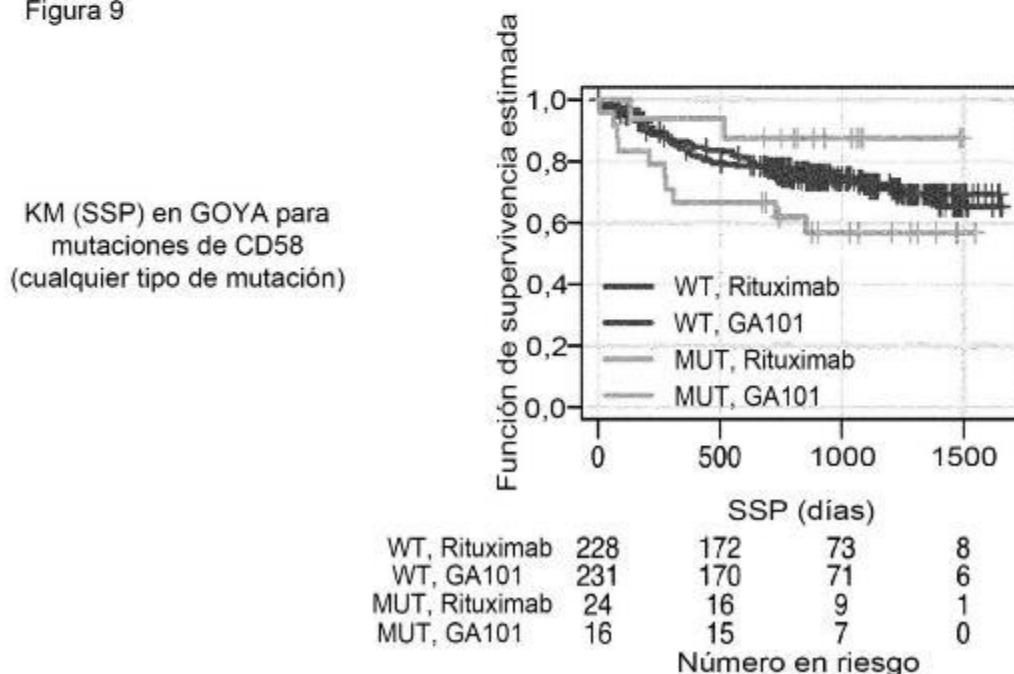


Figura 9 (continuación)

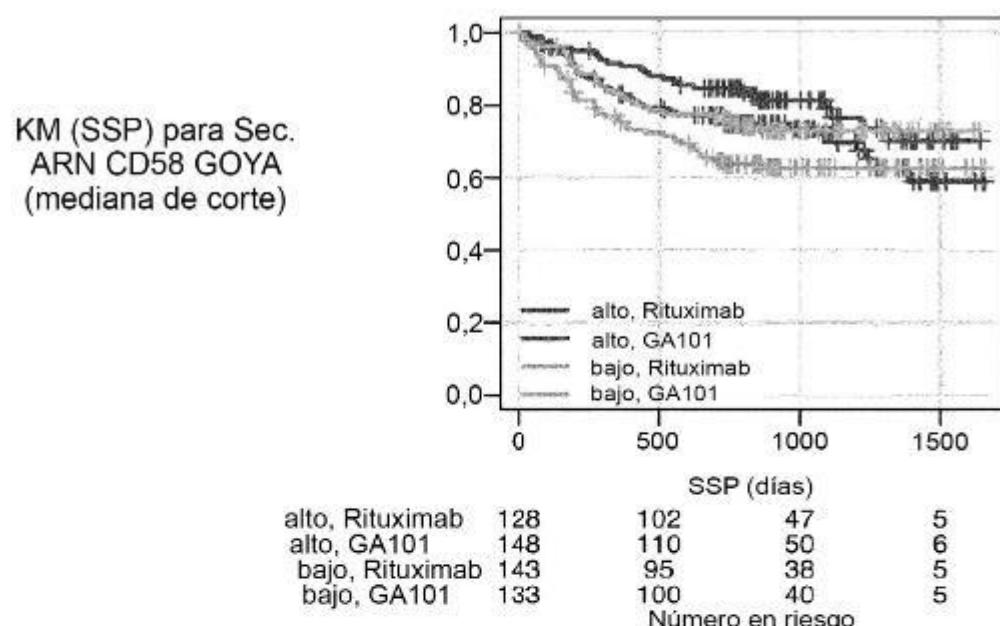
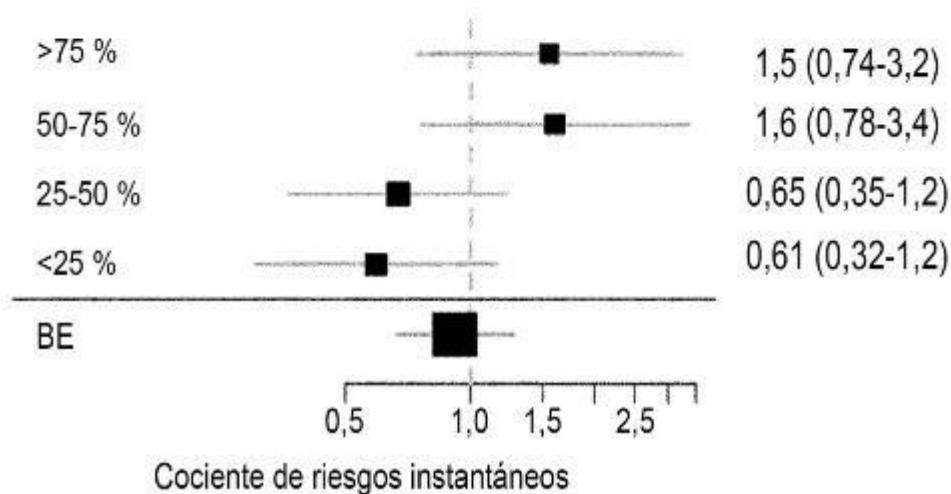


Gráfico de bosque que evalúa el efecto
del tratamiento (G frente a R) en cuartiles
de expresión génica de CD58 CRI (IC 95 %)



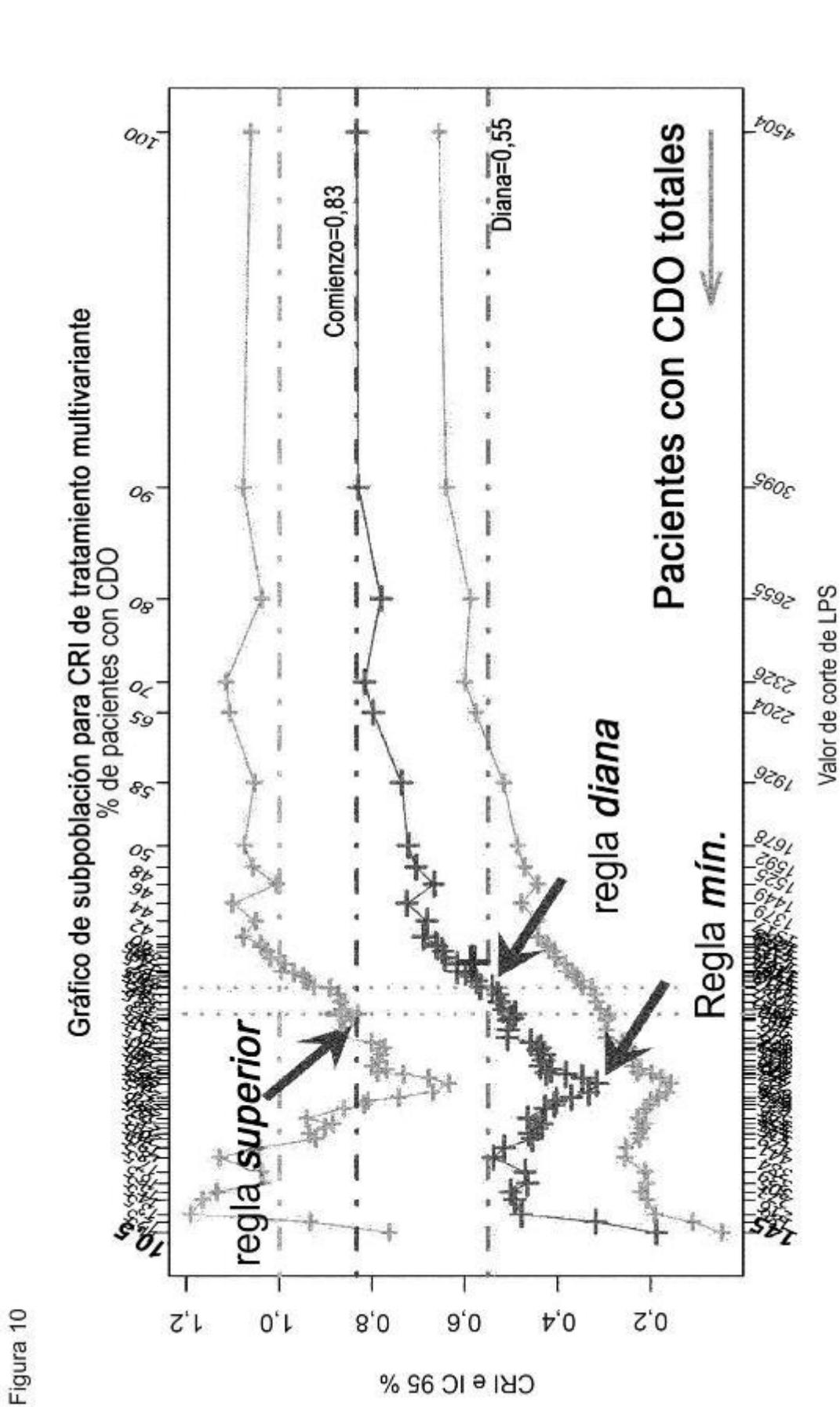
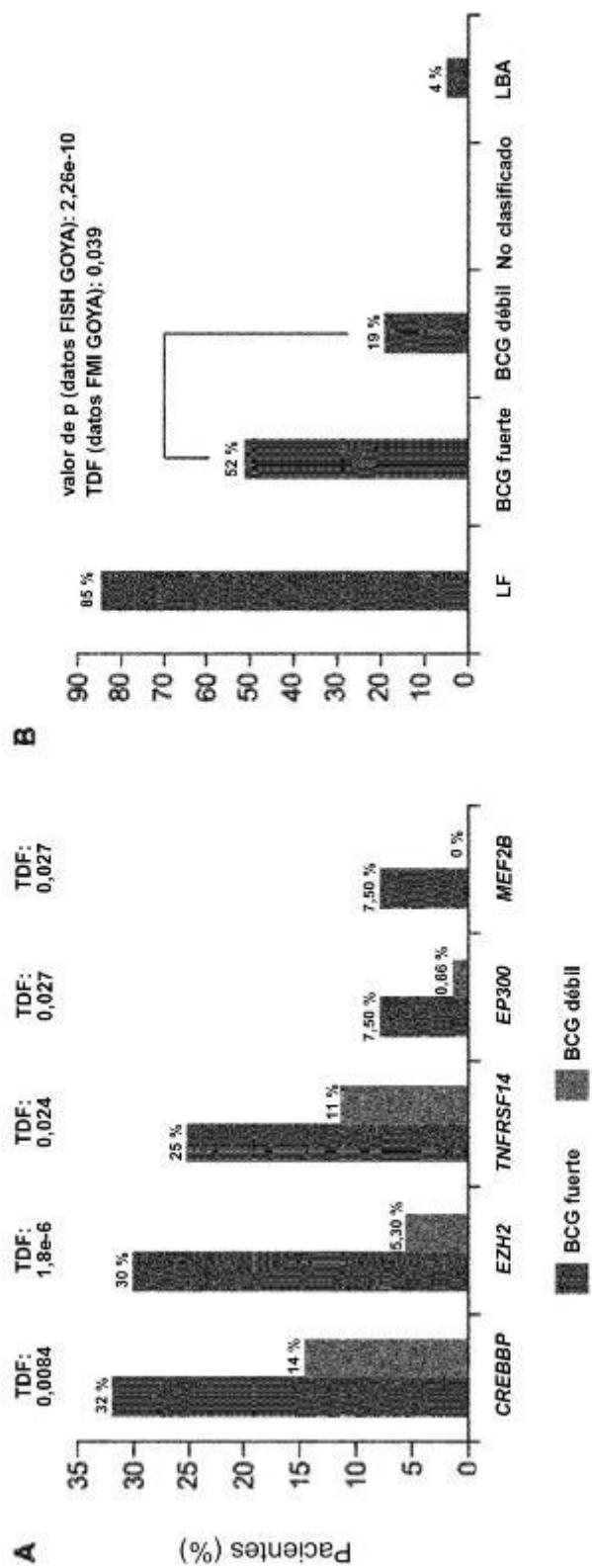


Figura 11



*Datos de GOYA Foundation Medicine NGS¹ 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

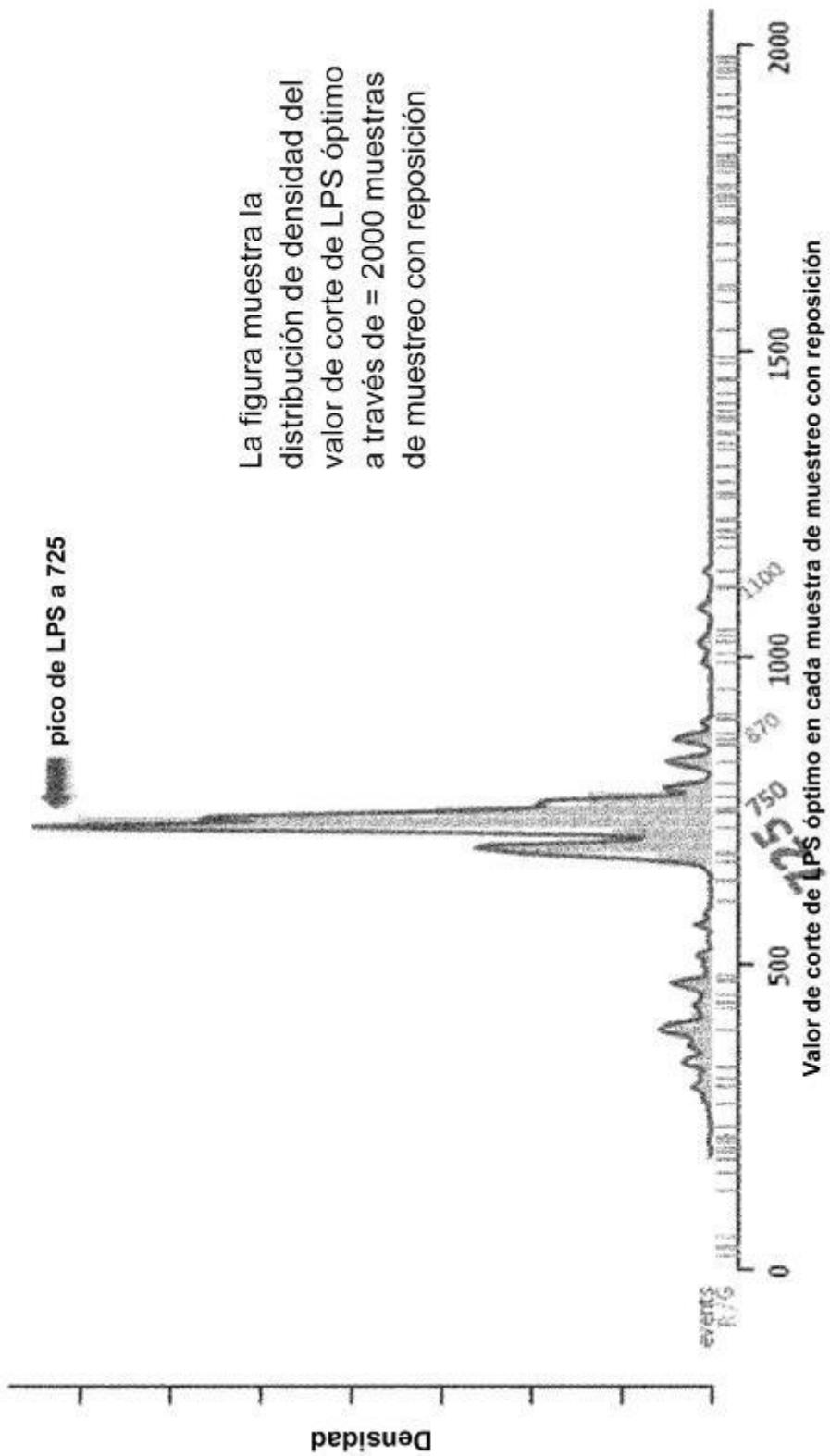
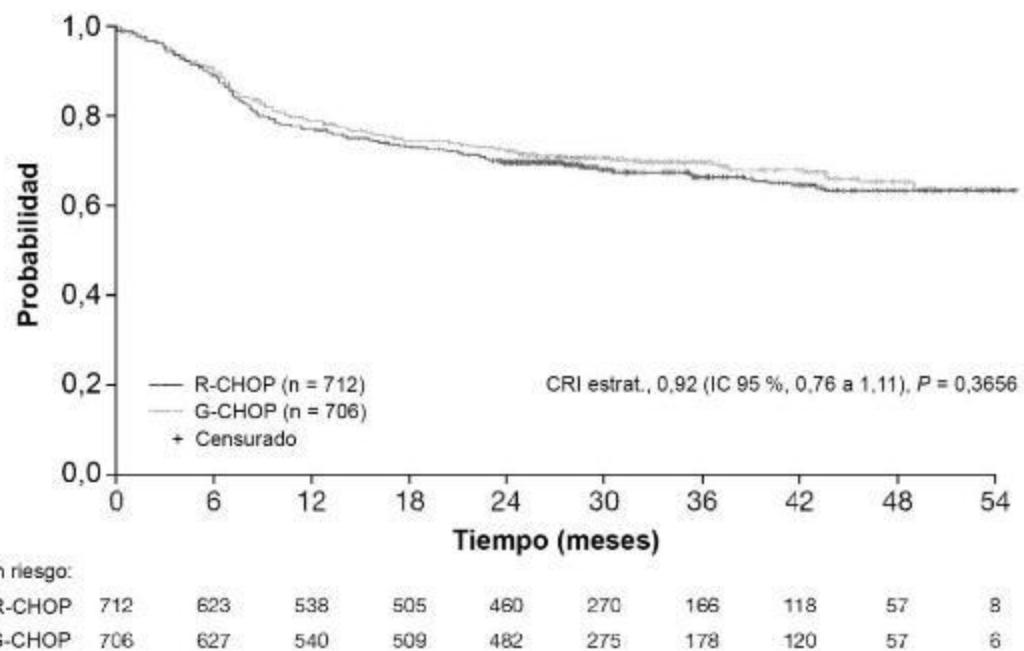


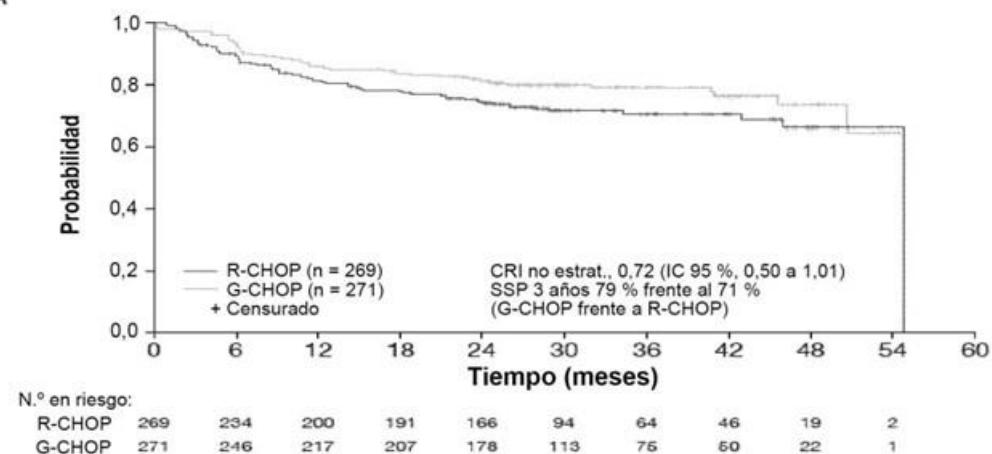
Figura 13



ES 2 933 256 T3

Figura 14 (cont.)

A



B

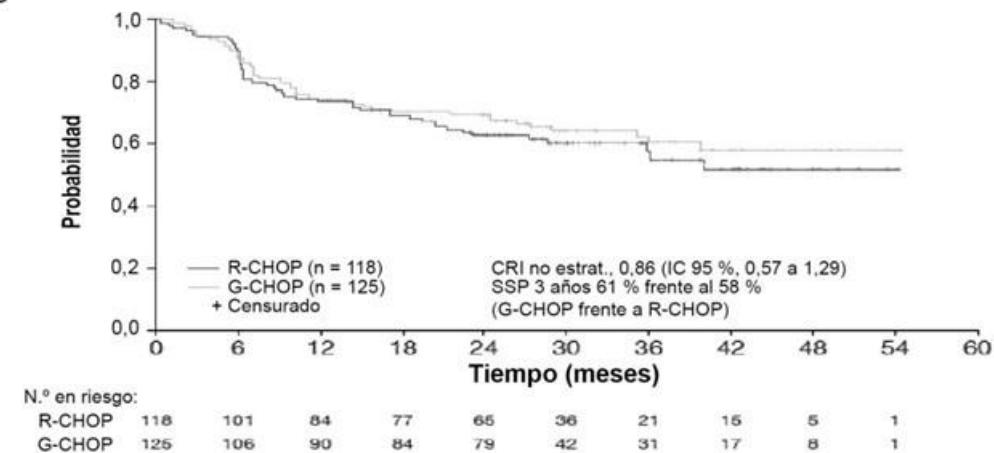


Figura 14 (continuación)

