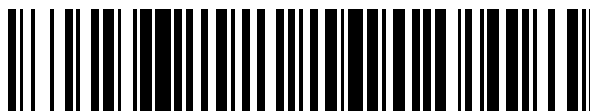


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 141**

51 Int. Cl.:

A61K 38/20 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.01.2006 E 06719806 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2013 EP 1846020**

54 Título: **Procedimientos para tratar carcinoma de células renales**

30 Prioridad:

27.01.2005 US 647496 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.11.2013

73 Titular/es:

**NOVARTIS VACCINES AND DIAGNOSTICS, INC.
(100.0%)
INTELLECTUAL PROPERTY - R440 P.O. BOX
8097
EMERYVILLE, CA 94662-8097, US**

72 Inventor/es:

**ELIAS, LAURENCE y
WITHERELL, GARY**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 432 141 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

Procedimientos para tratar carcinoma de células renales.

5 CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere generalmente a procedimientos para tratar carcinoma de células renales con IL-2. En particular, la invención se refiere a procedimientos para tratar carcinoma de células renales en pacientes que son renalmente insuficientes o intolerantes a terapia con IL-2 a alta dosis.

10

ANTECEDENTES

La interleucina-2 (IL-2) es un potente estimulante de la proliferación y función de linfocitos citolíticos espontáneos (NK) y T (Morgan y col. (1976) *Science* 193:1007-1011). Se ha mostrado que estas linfocinas que se producen naturalmente tienen actividad antitumoral contra una variedad de tumores malignos tanto solas como cuando se combinan con linfocitos citolíticos activados por linfocinas (LAK) o linfocitos infiltrantes de tumores (TIL) (véase, por ejemplo, Rosenberg y col., *N. Engl. J. Med.* (1987) 316:889-897; Rosenberg, *Ann. Surg.* (1988) 208:121-135; Topalian y col., *J. Clin. Oncol.* (1988) 6:839-853; Rosenberg y col., *N. Engl. J. Med.* (1988) 319:1676-1680; y Weber y col., *J. Clin. Oncol.* (1992) 10:33-40). La actividad antitumoral de IL-2 se ha descrito mejor en pacientes con melanoma metastásico y carcinoma de células renales usando Proleukin[®], una formulación de IL-2 comercialmente disponible de Chiron Corporation, Emeryville, CA. Otras enfermedades, que incluyen linfoma, también parece que responden a tratamiento con IL-2 (Gisselbrecht y col., *Blood* (1994) 83:2020-2022). Sin embargo, altas dosis de IL-2 usadas para lograr resultados terapéuticos positivos con respecto a crecimiento tumoral frecuentemente producen graves efectos secundarios, que incluyen fiebre y escalofríos, hipotensión y fuga capilar (síndrome de fuga vascular o SFV), y cambios neurológicos (véase, por ejemplo, Duggan y col., *J. Immunotherapy* (1992) 12:115-122; Gisselbrecht y col., *Blood* (1994) 83:2081-2085; y Sznol y Parkinson, *Blood* (1994) 83:2020-2022).

El carcinoma de células renales metastásico (CCR) es generalmente resistente a quimioterapia, tanto con agentes individuales como con múltiples agentes en combinación. Se ha observado mayor éxito con inmunoterapia, particularmente con el uso de IL-2. La terapia con IL-2 intravenosa a alta dosis ha producido respuestas tumorales objetivas en aproximadamente el 15% de los pacientes, algunas con durabilidad larga. Sin embargo, la administración de IL-2 a alta dosis está asociada a síndrome de fuga capilar, que produce hipotensión y reducida perfusión de órganos, que puede ser grave y algunas veces mortal. Estas toxicidades se han limitado generalmente al uso de IL-2 a un grupo altamente seleccionado de pacientes administrados por médicos con experiencia significativa en su administración. El uso de menores dosis y pautas subcutáneamente administradas de IL-2 sola o en combinación con otros agentes biológicos, tales como interferón- α , se ha explorado en un esfuerzo por desarrollar una terapia más ampliamente aplicable para esta enfermedad (véase, por ejemplo, Nieken y col., *Cancer Biother. Radiopharm.* (1996) 11:289-295; Sleijfer y col., *J. Clin. Oncol.* (1992) 10:1119-1123; Lessoni y col., *Anticancer Res.* (2002) 22:1061-1-1064; Tourani y col., *J. Clin. Oncol.* (1998) 16:2505; y Schiller y col. *Cancer Res.* (1993) 53:1286-1292).

Sigue existiendo la necesidad de una terapia mejorada para tratar pacientes que tienen carcinoma de células renales que reduzca la toxicidad y mejore la eficacia terapéutica.

45 RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un procedimiento eficaz para tratar carcinoma de células renales con IL-2. El procedimiento utiliza una dosis relativamente baja de IL-2 en comparación con dosificaciones previamente usadas en terapias con IL-2 a alta dosis con el fin de reducir la toxicidad. Como se muestra en los ejemplos en el presente documento, esta pauta terapéutica inhibe significativamente el crecimiento tumoral con efectos secundarios adversos reducidos y proporciona un tratamiento alternativo para pacientes que no pueden tolerar la terapia con IL-2 a alta dosis.

El objetivo de la invención se define en las reivindicaciones.

En un aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar un paciente humano que tiene carcinoma de células renales. En ciertas realizaciones, el paciente es renalmente insuficiente. En ciertas realizaciones, el carcinoma de células renales es metastásico. En ciertas realizaciones, el paciente es intolerante a tratamiento con IL-2 a alta dosis.

En otro aspecto, el procedimiento comprende: a) administrar una dosis de 9-18 MUI de IL-2 por día, en 1-3 dosis al día, durante 3-6 días a la semana, repetida durante 1-24 semanas; b) no administrar IL-2 durante 1-4 semanas; c) administrar una dosis de 9 MUI de IL-2 por día, en 1-3 dosis al día, durante 3-6 días a la semana, repetida durante 1-24 semanas; y d) no administrar IL-2 durante 1-4 semanas.

En otro aspecto más, el procedimiento comprende: a) primero, administrar una dosis de 18 MUI de IL-2 por día

durante 5 días durante una semana; b) segundo, administrar una dosis de 9 MUI de IL-2 por día durante 2 días, seguido de administrar una dosis de 18 MUI de IL-2 por día durante 3 días durante cada semana, repetida durante 5 semanas; c) tercero, no administrar IL-2 durante 3 semanas; d) cuarto, administrar una dosis de 9 MUI de IL-2 por día durante 5 días de cada semana, repetida durante 6 semanas; y e) quinto, no administrar IL-2 durante 3 semanas.

En cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento, la IL-2 puede ser IL-2 recombinantemente producida. La IL-2 puede incluir IL-2 humana o variantes de la misma que comprenden una secuencia que tiene al menos aproximadamente el 70-100% de identidad de secuencias con la secuencia de IL-2 humana (SEC ID N°: 1), que incluye cualquier identidad en porcentaje dentro de estos intervalos, tales como el 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100% de identidad de secuencias con la misma. En ciertas realizaciones, la IL-2 es una muteína de IL-2, por ejemplo, pero no se limita a, Ala₁₀₄ Ser₁₂₅ IL-2; des-Ala₁ des-Pro₂ des-Thr₃ des-Ser₄ Ala₁₀₄ Ser₁₂₅ IL-2; y des-Ala₁ des-Pro₂ des-Thr₃ des-Ser₄ des-Ser₅ des-Ser₆ IL-2. En una realización preferida, la muteína de IL-2 es des-alanil-1, serina-125-interleucina-2 humana (aldesleucina).

En ciertas realizaciones, la IL-2 está conjugada con un polietilenglicol. Polietilenglicoles a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, un polietilenglicol que tiene un peso molecular promedio de 1.000 a 40.000 daltons, un polietilenglicol que tiene un peso molecular promedio de 2.000 a 20.000 daltons y un polietilenglicol que tiene un peso molecular promedio de 3.000 a 12.000 daltons.

En otras realizaciones, la IL-2 está covalentemente conjugada con un poliol polioxietilado. Polioles polioxietilados a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, sorbitol polioxietilado, glucosa polioxietilada y glicerol polioxietilado. En ciertas realizaciones, el poliol polioxietilado es un glicerol polioxietilado que tiene un peso molecular promedio de 1.000 a 40.000.

En cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento, múltiples ciclos del procedimiento de tratamiento pueden administrarse al sujeto durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar al menos una respuesta tumoral parcial. En ciertas realizaciones, el periodo de tiempo es al menos 6 meses. En ciertas realizaciones, el periodo de tiempo es al menos 12 meses. En ciertas realizaciones, el periodo de tiempo es suficiente para efectuar una respuesta tumoral completa.

En ciertos aspectos, el procedimiento de tratamiento comprende además múltiples ciclos de un tratamiento que comprende: a) administrar una dosis de 9 MUI de IL-2 por día, en 1-3 dosis al día, durante 3-6 días a la semana, repetida durante 1-24 semanas; y b) no administrar IL-2 durante 1-4 semanas; administrada a dicho sujeto durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar al menos una respuesta tumoral parcial.

En cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento, la IL-2 puede administrarse por administración subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, oral, pulmonar, nasal, tópica o transdérmica, o por infusión o supositorios. En una realización preferida, la IL-2 se administra subcutáneamente.

Estas y otras realizaciones de la invención objeto se producirán fácilmente para aquellos expertos en la materia en vista de la divulgación en el presente documento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 compara la eficacia relativa de IL-2 a baja dosis en pacientes con carcinoma de células renales metastásico que tienen función renal normal (creatinina en suero (SCr) \leq 1,5 mg/dl) y alterada (SCr $>$ 1,5 mg/dl) tras la administración de las pautas descritas en el Ejemplo 3. La Figura 1 muestra una representación del porcentaje de sujetos que presentan supervivencia libre de progresión (SLP) frente al tiempo en años y una representación del porcentaje de sujetos supervivientes frente al tiempo en años.

La Figura 2 muestra un gráfico de barras que representa las tasas de respuesta global para pacientes con carcinoma de células renales metastásico que tienen función renal normal (SCr \leq 1,5 mg/dl) y alterada (SCr $>$ 1,5 mg/dl) tratados con IL-2 a baja dosis tras la administración de las pautas descritas en el Ejemplo 3. El porcentaje de sujetos que muestran una respuesta completa (RC) se muestra con sombreado claro. El porcentaje de sujetos que muestran una respuesta parcial (RP) se muestra con sombreado oscuro.

La Figura 3 compara las características del paciente (PS, nefrectomía previa) de la población tratada en el estudio clínico de fase IV de IL-2 a baja dosis descrito en el presente documento con grupos de control históricos. Véanse Pyrhonen y col. (1999) J. Clin. Oncol. 17:2859-2867; Motzer y col. (1999) J. Clin. Oncol. 17:2530-40; Ritchie y col. (1999) Lancet 353:14-17; Kriegmair y col. (1995) Urology 45:758-762; y Jones y col. (1993) Cancer Biother. 8:275-288; Gleave y col. (1998) New Engl. J. Med. 338:1265-1271; Steineck y col. (1990) Acta Oncol. 29:155-162; y Osband y col. (1990) Lancet 335:994-998 para una descripción de grupos de control históricos de estudios clínicos de pacientes con carcinoma de células renales.

La Figura 4 compara los desenlaces de los pacientes (ORR, SLP, OS a 1 año, OS a 2 años) de la población tratada en el estudio clínico de fase IV de IL-2 a baja dosis descrito en el presente documento con grupos de control históricos.

La Figura 5 compara la tasa de supervivencia de pacientes tratados con IL-2 a baja dosis tras la

administración de las pautas descritas en el Ejemplo 3 con la de un grupo de control histórico de pacientes tratados con quimioterapia en lugar de IL-2 (Jones y col. (1993) J. Clin. Oncol. 12:2714-2722). Los pacientes se subdividieron en grupos de riesgo según el sistema de Jones de estratificación del factor de riesgo del siguiente modo: riesgo asumible (0-1 factores de riesgo), riesgo moderado (2 factores de riesgo) y mal pronóstico (los 3 factores de riesgo). La Figura 5 muestra representaciones separadas del porcentaje de sujetos supervivientes frente al tiempo en años para cada uno de los grupos de riesgo. Los datos para sujetos tratados con IL-2 a baja dosis se muestran con una línea continua. Los datos para sujetos tratados con quimioterapia se muestran con una línea discontinua.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, procedimientos convencionales de farmacología, química, bioquímica y técnicas de ADN recombinante e inmunología, dentro de la experiencia en la materia. Tales técnicas se explican completamente en la bibliografía. Véanse, por ejemplo, Handbook of Experimental Immunology, vol. I-IV (D.M. Weir y C.C. Blackwell eds., Blackwell Scientific Publications); A.L. Lehninger, Biochemistry (Worth Publishers, Inc., edición actual); Sambrook, y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2ª edición, 1989); Methods In Enzymology (S. Colowick y N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.).

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente citadas en el presente documento, tanto arriba como más adelante, se incorporan en este documento por referencia en sus totalidades.

I. DEFINICIONES

En la descripción de la presente invención se emplearán los siguientes términos, y pretenden definirse como se indica a continuación.

Debe observarse que, como se usa en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales, a menos que el contenido dicte claramente de otro modo. Así, por ejemplo, referencia a "un agente quimioterapéutico" incluye una mezcla de dos o más de tales agentes, y similares.

El término "IL-2" como se usa en el presente documento es una proteína derivada de una linfocina que es producida por linfocitos de sangre periférica normal y está presente en el cuerpo a bajas concentraciones. La IL-2 se describió por primera vez por Morgan y col. (1976) Science 193:1007-1008 y originariamente la llamó factor de crecimiento de linfocitos T debido a su capacidad para inducir la proliferación de linfocitos T estimulados. Es una proteína con un peso molecular informado en el intervalo de 13.000 a 17.000 (Gillis y Watson (1980) J. Exp. Med. 159:1709) y tiene un punto isoelectrico en el intervalo de 6-8,5. Tanto las proteínas IL-2 de longitud completa como los fragmentos biológicamente activos de las mismas están englobados por la definición. El término también incluye modificaciones post-expresión de la IL-2, por ejemplo, glucosilación, acetilación, fosforilación y similares. Además, para los fines de la presente invención, el término "IL-2" se refiere a una proteína que incluye modificaciones tales como deleciones, adiciones y sustituciones (generalmente conservativas en la naturaleza), a la secuencia nativa, mientras que la proteína mantenga la actividad biológica, es decir, actividad antitumoral. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, como mediante mutagénesis dirigida a sitio, o pueden ser accidentales, tal como mediante mutaciones de huéspedes que producen las proteínas o errores debidos a amplificación por PCR.

El término "derivada de" se usa en el presente documento para identificar la fuente original de una molécula, pero no pretende limitar el procedimiento por el que la molécula se prepara, que puede ser, por ejemplo, por síntesis química o medios recombinantes.

Los términos "variante", "análogo" y "muteína" se refieren a derivados biológicamente activos de la molécula de referencia que retienen la actividad deseada, tal como actividad antitumoral en el tratamiento de carcinoma de células renales descrito en el presente documento. En general, los términos "variante" y "análogo" se refieren a compuestos que tienen una secuencia y estructura de polipéptidos nativa con una o más adiciones, sustituciones (generalmente conservativas en la naturaleza) y/o deleciones de aminoácidos, con respecto a la molécula nativa, mientras que las modificaciones no destruyan la actividad biológica y sean "sustancialmente homólogas" a la molécula de referencia como se define más adelante. En general, las secuencias de aminoácidos de tales análogos tendrán un alto grado de homología de secuencias con la secuencia de referencia, por ejemplo, homología de secuencias de aminoácidos superior al 50%, generalmente superior al 60%-70%, incluso más particularmente del 80%-85% o más, tal como al menos el 90%-95% o más, cuando las dos secuencias están alineadas. Frecuentemente, los análogos incluirán el mismo número de aminoácidos, pero incluirán sustituciones, como se explica en el presente documento. El término "muteína" incluye adicionalmente polipéptidos que tienen una o más moléculas similares a aminoácido que incluyen, pero no se limitan a, compuestos que comprenden solo moléculas amino y/o imino, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (incluyendo, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), polipéptidos con enlaces sustituidos, además de otras modificaciones conocidas en la técnica, tales como moléculas que se producen naturalmente y que no se producen naturalmente (por ejemplo, sintéticas), cicladas, ramificadas y similares. El término también incluye moléculas que comprenden uno o más

residuos de glicina N-sustituídos (un "peptide") y otros aminoácidos o péptidos sintéticos (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. nº 5.831.005; 5.877.278; y 5.977.301; Nguyen y col., Chem Biol. (2000) 7:463-473; y Simon y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992) 89:9367-9371 para descripciones de peptoides). Preferentemente, el análogo o muteína tiene al menos la misma actividad antitumoral que la molécula nativa. Procedimientos para preparar análogos de polipéptidos y muteínas se conocen en la técnica y se describen adicionalmente más adelante.

Como se ha explicado anteriormente, los análogos generalmente incluyen sustituciones que son conservativas en la naturaleza, es decir, aquellas sustituciones que tienen lugar dentro de una familia de aminoácidos que están relacionados en sus cadenas laterales. Específicamente, los aminoácidos se dividen generalmente en cuatro familias: (1) ácidos -- aspartato y glutamato; (2) básicos -- lisina, arginina, histidina; (3) no polares -- alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina, triptófano; y (4) polares sin carga -- glicina, asparagina, glutamina, cisteína, serina, treonina, tirosina. La fenilalanina, triptófano y tirosina se clasifican algunas veces como aminoácidos aromáticos. Por ejemplo, es razonablemente predecible que una sustitución aislada de leucina con isoleucina o valina, un aspartato con un glutamato, una treonina con una serina, o una sustitución conservativa similar de un aminoácido con un aminoácido estructuralmente relacionado, no tenga un mayor efecto sobre la actividad biológica. Por ejemplo, el polipéptido de interés puede incluir hasta aproximadamente 5-10 sustituciones de aminoácidos conservativas o no conservativas, o incluso hasta aproximadamente 15-25 sustituciones de aminoácidos conservativas o no conservativas, o cualquier número entero entre 5-25, mientras que la función deseada de la molécula permanezca intacta. Un experto en la materia puede determinar fácilmente regiones de la molécula de interés que pueden tolerar el cambio por referencia a representaciones de Hopp/Woods y Kyte-Doolittle, muy conocidos en la técnica.

Por "derivado" está prevista cualquier modificación adecuada del polipéptido nativo de interés, de un fragmento del polipéptido nativo, o de sus análogos respectivos, tales como glucosilación, fosforilación, conjugación de polímeros (tal como con polietilenglicol), u otra adición de restos extraños, mientras que se retenga la actividad biológica deseada del polipéptido nativo. Los procedimientos para preparar fragmentos de polipéptidos, análogos y derivados están generalmente disponibles en la materia.

Por "fragmento" está prevista una molécula que consiste en solo una parte de la secuencia y estructura de longitud completa intacta. El fragmento puede incluir una deleción del extremo C, una deleción del extremo N y/o una deleción interna del polipéptido nativo. Fragmentos activos de una proteína particular generalmente incluirán al menos aproximadamente 5-10 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa, preferentemente al menos aproximadamente 15-25 residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa, y lo más preferentemente al menos aproximadamente 20-50 o más residuos de aminoácidos contiguos de la molécula de longitud completa, o cualquier número entero entre 5 aminoácidos y la secuencia de longitud completa, a condición de que el fragmento en cuestión retenga la actividad biológica, tal como actividad antitumoral, como se define en el presente documento.

"Sustancialmente purificado" generalmente se refiere al aislamiento de una sustancia (compuesto, polinucleótido, proteína, polipéptido, composición de polipéptido) de forma que la sustancia comprenda la mayoría del porcentaje de la muestra en la que reside. Normalmente, en una muestra, un componente sustancialmente purificado comprende el 50%, preferentemente el 80%-85%, más preferentemente el 90-95% de la muestra. Técnicas para purificar polinucleótidos y polipéptidos de interés son muy conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad y sedimentación según densidad.

Por "aislado" se indica, cuando se refiere a un polipéptido, que la molécula indicada está separada y discreta del organismo completo con el que la molécula se encuentra en la naturaleza o está presente en ausencia sustancial de otras macromoléculas biológicas del mismo tipo. El término "aislado" con respecto a un polinucleótido es una molécula de ácido nucleico que carece, por completo o en parte, de secuencias normalmente asociadas al mismo en la naturaleza; o una secuencia, como existe en la naturaleza, pero que tiene secuencias heterólogas en asociación con el mismo; o una molécula disociada del cromosoma.

"Homología" se refiere a la identidad en porcentaje entre dos restos de polinucleótidos o dos restos de polipéptidos. Dos secuencias de ácidos nucleicos o dos de polipéptidos son "sustancialmente homólogas" entre sí cuando las secuencias presentan al menos aproximadamente el 50%, preferentemente al menos aproximadamente el 75%, más preferentemente al menos aproximadamente el 80%-85%, preferentemente al menos aproximadamente el 90%, y lo más preferentemente al menos aproximadamente el 95%-98% de identidad de secuencias sobre una longitud definida de las moléculas. Como se usa en el presente documento, sustancialmente homólogo también se refiere a secuencias que muestran identidad completa con la secuencia especificada.

En general, "identidad" se refiere a una correspondencia nucleótido a nucleótido o aminoácido a aminoácido exacta de dos polinucleótidos o secuencias de polipéptidos, respectivamente. La identidad en porcentaje puede determinarse por una comparación directa de la información de secuencias entre dos moléculas (la secuencia de referencia y una secuencia con % de identidad desconocido con la secuencia de referencia) alineando las secuencias, contando el número exacto de coincidencias entre las secuencias alineadas, dividiendo entre la longitud de la secuencia de referencia y multiplicando el resultado por 100. Pueden usarse programas informáticos fácilmente

disponibles para ayudar en el análisis, tales como ALIGN, Dayhoff, M.O. En *Atlas of Protein Sequence and Structure* M.O. Dayhoff ed., 5 Suppl. 3:353-358, National biomedical Research Foundation, Washington, DC, que adapta el algoritmo de homología local de Smith y Waterman *Advances in Appl. Math.* 2:482-489, 1981, para el análisis de péptidos. Programas para determinar la identidad de secuencias de nucleótidos están disponibles en the Wisconsin Sequence Analysis Package, versión 8 (disponible de Genetics Computer Group, Madison, WI), por ejemplo, los programas BESTFIT, FASTA y GAP, que también se basan en el algoritmo de Smith y Waterman. Estos programas se utilizan fácilmente con los parámetros por defecto recomendados por el fabricante y descritos en the Wisconsin Sequence Analysis Package citado anteriormente. Por ejemplo, la identidad en porcentaje de una secuencia de nucleótidos particular con una secuencia de referencia puede determinarse usando el algoritmo de homología de Smith y Waterman con una tabla de puntuación por defecto y una penalización por hueco de seis posiciones de nucleótidos.

Otro procedimiento de establecimiento de la identidad en porcentaje en el contexto de la presente invención es para usar el paquete MPSRCH de programas protegidos por derechos de autor por la Universidad de Edimburgo, desarrollados por John F. Collins y Shane S. Sturrok, y distribuidos por IntelliGenetics, Inc. (Mountain View, CA). A partir de este paquete de aplicaciones, el algoritmo de Smith-Waterman puede emplearse cuando los parámetros por defecto se usen para la tabla de puntuación (por ejemplo, penalización por apertura de hueco de 12, penalización por extensión de hueco de uno, y un hueco de seis). A partir de los datos generados, el valor "coincidencia" refleja la "identidad de secuencias". Otros programas adecuados para calcular la identidad en porcentaje o similitud entre secuencias se conocen generalmente en la técnica, por ejemplo, otro programa de alineamiento es BLAST, usado con parámetros por defecto. Por ejemplo, BLASTN y BLASTP pueden usarse usando los siguientes parámetros por defecto: código genético = estándar; filtro = ninguno; cadena = ambas; corte = 60; esperado = 10; matriz = BLOSUM62; descripciones = 50 secuencias; clasificar por = MAYOR PUNTUACIÓN; bases de datos = no redundantes, GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + GenBank CDS translations + Swiss protein + Spupdate + PIR. Detalles de estos programas están fácilmente disponibles.

Alternativamente, la homología puede determinarse por hibridación de polinucleótidos en condiciones que forman dúplex estables entre regiones homólogas, seguido de digestión con nucleasa(s) específica(s) monocatenaria(s), y determinación del tamaño de los fragmentos digeridos. Las secuencias de ADN que son sustancialmente homólogas pueden identificarse en un experimento de hibridación Southern bajo, por ejemplo, condiciones rigurosas, como se define para ese sistema particular. La definición de condiciones de hibridación apropiadas está dentro de la experiencia en la materia. Véase, por ejemplo, Sambrook y col., arriba; *DNA Cloning*, arriba; *Nucleic Acid Hybridization*, arriba.

"Recombinante" como se usa en el presente documento para describir una molécula de ácido nucleico significa un polinucleótido de origen genómico, de ADNc, viral, semisintético o sintético que, en virtud de su origen o manipulación, no está asociado a todo o una parte del polinucleótido con el que está asociado en la naturaleza. El término "recombinante" como se usa con respecto a una proteína o polipéptido significa un polipéptido producido por expresión de un polinucleótido recombinante. En general, el gen de interés se clona y luego se expresa en organismos transformados, como se describe adicionalmente más adelante. El organismo huésped expresa el gen extraño para producir la proteína bajo condiciones de expresión.

"Renalmente insuficiente" como se usa en el presente documento se refiere a un paciente que tiene una tasa de filtración glomerular insuficiente. Un paciente tal se caracteriza en el presente documento por un nivel de creatinina en suero (SCr) superior a 1,5 mg/dl.

Por "actividad antitumoral" está prevista una reducción en la tasa de proliferación celular, y de ahí una disminución en la tasa de crecimiento de un tumor existente o en un tumor que aparece durante terapia, y/o destrucción de células neoplásicas (tumores) existentes o células neoplásicas recientemente formadas, y de ahí una disminución en el tamaño global de un tumor durante la terapia. Tal actividad puede evaluarse usando modelos animales, tales como modelo de xenoinjertos de carcinoma de células renales humano. Véase, por ejemplo, Pulkkanen y col., *In Vivo* (2000) 14:393-400 y Everitt y col., *Toxicol. Lett.* (1995) 82-83:621-625 para una descripción de modelos animales.

Por "dosis o cantidad terapéuticamente eficaz" de IL-2 o una variante de la misma está prevista una cantidad que, cuando se administra como se describe en el presente documento, provoca una respuesta terapéutica positiva, tal como actividad antitumoral.

El término "respuesta tumoral" como se usa en el presente documento significa una reducción o eliminación de todas las lesiones medibles. Los criterios para respuesta tumoral se basan en los criterios de información de la OMS [WHO Offset Publication, 48-World Health Organization, Ginebra, Suiza (1979)]. Idealmente, todas las lesiones uni- o bidimensionalmente medibles deben medirse en cada evaluación. Si están presentes múltiples lesiones en cualquier órgano, tales mediciones pueden no ser posibles y, bajo tales circunstancias, hasta 6 lesiones representativas deben seleccionarse, si está disponible.

El término "respuesta completa" (RC) como se usa en el presente documento significa una desaparición completa de

toda enfermedad maligna clínicamente detectable, determinada por 2 evaluaciones separadas al menos 4 semanas.

El término “respuesta parcial” (RP) como se usa en el presente documento significa una reducción del 50% o superior del nivel inicial en la suma de los productos de los diámetros perpendiculares más largos de toda la enfermedad medible sin progresión de enfermedad evaluable y sin pruebas de ninguna nueva lesión como se ha determinado por al menos dos evaluaciones consecutivas separadas al menos cuatro semanas. Las evaluaciones deben mostrar una disminución parcial en el tamaño de lesiones líticas, recalcificaciones de lesiones líticas o densidad disminuida de lesiones blásticas. Es usual que IL-2 produzca inflamación transitoria en sitios de enfermedad metastásica. Lesiones individuales que parece que aumentan en tamaño no descalifican necesariamente una RP a menos que el aumento esté documentado en dos mediciones secuenciales tomadas separadas al menos 28 días.

El término “enfermedad progresiva” (EP) como se usa en el presente documento se refiere a un aumento del 25% o mayor en el tamaño de al menos una lesión bidimensionalmente (producto de los diámetros perpendiculares más largos) o unidimensionalmente medible; claro empeoramiento de cualquier lesión evaluable; reaparición de cualquier lesión que había desaparecido; o la aparición de nuevas lesiones; como se ha determinado por al menos dos evaluaciones consecutivas separadas al menos 28 días.

El término “enfermedad estable” (EE) o “sin cambio” como se usa en el presente documento en referencia a (a) enfermedad bidimensionalmente medible significa menos de aproximadamente el 50% de disminución o inferior a aproximadamente el 25% de aumento en la suma de los productos de los diámetros perpendiculares más largos de todas las lesiones medibles y (b) enfermedad unidimensionalmente medible significa menos de aproximadamente el 50% de disminución o inferior a aproximadamente el 25% de aumento en la suma de los diámetros de todas las lesiones. No deben aparecer nuevas lesiones. Es la ausencia de una respuesta completa, respuesta parcial o progresión. Debido a la lenta respuesta de lesiones óseas al tratamiento, la designación “sin cambio” no debe aplicarse hasta que hayan pasado al menos ocho semanas desde el inicio de la terapia.

El término “paciente que no responde al tratamiento” como se usa en el presente documento significa pacientes con enfermedad estable o respuestas menores (superiores al 25% pero inferiores al 50% de reducción en la carga tumoral).

El término “progresión” como se usa en el presente documento significa un aumento del 25% en la suma de los productos de todas las lesiones medibles con respecto a la suma más pequeña observada, o con respecto al nivel inicial si no hay disminución desde el nivel inicial; claro empeoramiento de cualquier lesión evaluable; reaparición de cualquier lesión que había desaparecido; aparición de cualquier nueva lesión o sitios, que incluyen nuevos sitios de enfermedad no evaluable; y/o en casos en los que pueda producirse un recrudescimiento del tumor inicial (hipercalcemia, dolor óseo, eritema de lesiones de la piel), los síntomas deben tanto persistir más allá de cuatro semanas como debe haber pruebas adicionales de progresión.

El término “respuesta global” como se usa en el presente documento significa la respuesta como se ha determinado a partir de considerar todos los sitios de enfermedad maligna. En sujetos con enfermedad medible, la respuesta más pobre debe ser la respuesta global. Cualquier cambio en lesiones no medibles distraerá de una respuesta parcial en lesiones medibles; es decir, la respuesta global será una respuesta parcial. Ningún cambio en lesiones no medibles reducirá una respuesta completa en lesiones medibles; es decir, la respuesta global será una respuesta parcial.

El término “duración de la respuesta” como se usa en el presente documento significa el tiempo desde la primera documentación de la mejor respuesta tumoral objetiva hasta el tiempo de progresión.

El término “supervivencia” como se usa en el presente documento significa el tiempo desde la primera dosis de IL-2 hasta el momento de la muerte.

El término “supervivencia libre de progresión” (SLP) como se usa en el presente documento significa para pacientes que responden al tratamiento el tiempo desde la primera dosis de IL-2 hasta el momento de progresión tumoral, muerte o la última visita a la clínica por el paciente si todavía responde.

II. Modos de llevar a cabo la invención

Antes de describir la presente invención en detalle, debe entenderse que la presente invención no se limita a formulaciones o parámetros de procedimiento particulares ya que tales pueden, por supuesto, variar. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento es solo con el fin de describir realizaciones particulares de la invención, y no pretende ser limitante.

Aunque pueden usarse varios procedimientos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos en el presente documento en la práctica de la presente invención, los materiales y procedimientos preferidos se describen en el presente documento.

La presente invención se basa en el descubrimiento de una metodología terapéutica novedosa para tratar con seguridad y eficazmente carcinoma de células renales por la administración de bajas dosis de IL-2. La pauta de tratamiento descrita en el presente documento inhibió significativamente el crecimiento tumoral con menor toxicidad y efectos secundarios adversos reducidos en comparación con tratamientos con IL-2 a alta dosis.

Aunque la invención se refiere al tratamiento de un tumor existente, se reconoce que los procedimientos puedan ser útiles en prevenir excrecencias tumorales adicionales que se producen durante la terapia. Los procedimientos de la invención son particularmente útiles en el tratamiento de sujetos que tienen carcinoma de células renales metastásico, que tienen función renal alterada y/o no pueden tolerar tratamiento con altas dosis de IL-2.

La IL-2 para su uso en la invención puede ser nativa u obtenerse por técnicas recombinantes, y puede ser de cualquier fuente, que incluye fuentes de mamífero tales como, por ejemplo, ratón, rata, conejo, primate, cerdo y ser humano. Las secuencias de IL-2 de varias especies son muy conocidas en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: IL-2 humana (*Homo sapiens*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº AAH66254; secuencia madura representada por los residuos 21-153 de acceso de GenBank nº AAH66254); IL-2 de mono rhesus (*Macaca mulatto*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P51498; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de la secuencia de acceso a GenBank nº P51498); IL-2 de babuino verde oliva (*Papio anubis*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº Q865Y1; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de la secuencia de acceso a GenBank nº Q865Y1); IL-2 de mangabeye fuliginoso (*Cercocebus torquatus atys*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P46649; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de la secuencia de acceso a GenBank nº P46649); IL-2 de macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº Q29615; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de la secuencia de acceso a GenBank nº Q29615); IL-2 de gibón común (*Hylobates lar*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº ICGI2; secuencia madura representada por los residuos 21-153 de la secuencia de acceso a GenBank nº ICGI2); IL-2 de mono ardilla común (*Saimiri sciureus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº Q8MKH2; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de la secuencia de acceso a GenBank nº Q8MKH2); IL-2 de vaca (*Bos taurus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P05016; secuencia madura representada por los residuos 21-155 de la secuencia de acceso a GenBank nº P05016; véase también la secuencia precursora de variante informada en acceso de GenBank nº NP-851340; secuencia madura representada por los residuos 24-158 de la secuencia de acceso a GenBank nº NP-851340); IL-2 de búfalo de agua (*Bubalus bubalis*; secuencia precursora, GenBank Q95KP3; secuencia madura representada por los residuos 21-155 de la secuencia de acceso a GenBank nº Q95KP3); IL-2 de caballo (*Equus caballus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P37997; secuencia madura representada por los residuos 21-149 de la secuencia de acceso a GenBank nº P37997); IL-2 de cabra (*Capra hircus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P36835; secuencia madura representada por los residuos 21-155 de la secuencia de acceso a GenBank nº P36835); IL-2 de oveja (*Ovis aries*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P19114; secuencia madura representada por los residuos 21-155 de la secuencia de acceso a GenBank nº P19114); IL-2 de cerdo (*Sus scrofa*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P26891; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de acceso de GenBank nº P26891); IL-2 de ciervo rojo (*Cervus elaplus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P51747; secuencia madura representada por los residuos 21-162 de la secuencia de acceso a GenBank nº P51747); IL-2 de perro (*Canis familiaris*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº Q29416; secuencia madura representada por los residuos 21-155 de la secuencia de acceso a GenBank nº Q29416); IL-2 de gato (*Felis catus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº Q07885; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de la secuencia de acceso a GenBank nº Q07885); IL-2 de conejo (*Oryctolagus cuniculus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº 077620; secuencia madura representada por los residuos 21-153 de la secuencia de acceso a GenBank nº O77620); IL-2 de orca (*Orcinus orca*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº 097513; secuencia madura representada por los residuos 21-152 de la secuencia de acceso a GenBank nº 097513); IL-2 de elefante marino del norte (*Mirounga angustirostris*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº O62641; secuencia madura representada por los residuos 21-154 de la secuencia de acceso a GenBank nº O62641); IL-2 de ratón doméstico (*Mus musculus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº NP_032392; secuencia madura representada por los residuos 21-169 de la secuencia de acceso a GenBank nº NP_032392); IL-2 de ratón moruno (*Mus spretus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº Q08867; secuencia madura representada por los residuos 21-166 de la secuencia de acceso a GenBank nº Q08867); IL-2 de rata de Noruega (*Rattus norvegicus*; secuencia precursora, acceso de GenBank nº P17108; secuencia madura representada por los residuos 21-155 de acceso a GenBank nº P17108); IL-2 de jerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*; secuencia precursora, acceso a GenBank nº Q08081; secuencia madura representada por los residuos 21-155 de acceso a GenBank nº Q08081); cualquiera de los polipéptidos de IL-2 de variante desvelados en estos números de acceso a GenBank anteriores; incorporándose cada uno de los informes de GenBank en el presente documento por referencia en su totalidad. Aunque puede utilizarse cualquier fuente de IL-2 para poner en práctica la invención, preferentemente la IL-2 se deriva de una fuente humana, particularmente cuando el sujeto que recibe terapia es un ser humano. En algunas realizaciones, la IL-2 para su uso en los procedimientos de la invención se produce recombinantemente, por ejemplo, proteínas IL-2 humanas recombinantes, que incluyen, pero no se limitan a, aquellas obtenidas de huéspedes microbianos.

Las composiciones útiles en los procedimientos de la invención pueden comprender variantes biológicamente activas de IL-2, que incluyen variantes de IL-2 de cualquier especie. Tales variantes deben retener la actividad biológica deseada del polipéptido nativo de forma que la composición farmacéutica que comprende el polipéptido de

variante tenga el mismo efecto terapéutico que la composición farmacéutica que comprende el polipéptido nativo cuando se administra a un sujeto. Es decir, el polipéptido de variante servirá de componente terapéuticamente activo en la composición farmacéutica de un modo similar al observado para el polipéptido nativo. En la materia están disponibles procedimientos para determinar si un polipéptido de variante retiene o no la actividad biológica deseada, y de ahí que sirva de componente terapéuticamente activo en la composición farmacéutica. La actividad biológica puede medirse usando ensayos específicamente diseñados para medir la actividad del polipéptido nativo o proteína, que incluye ensayos descritos en la presente invención. Adicionalmente, anticuerpos producidos contra un polipéptido nativo biológicamente activo pueden probarse para su capacidad para unirse al polipéptido de variante, siendo la unión eficaz indicativa de un polipéptido que tiene una conformación similar a la del polipéptido nativo.

Variantes biológicamente activas adecuadas de IL-2 nativa o que se produce naturalmente pueden ser fragmentos, análogos y derivados de ese polipéptido, como se ha definido anteriormente.

Por ejemplo, las variantes de secuencias de aminoácidos del polipéptido pueden prepararse por mutaciones en la secuencia de ADN clonada que codifica el polipéptido nativo de interés. Los procedimientos para mutagénesis y alteraciones de secuencias de nucleótidos son muy conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Walker y Gaastra, eds. (1983) *Techniques of Molecular Biology* (MacMillan Publishing Company, Nueva York); Kunkel (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:488-492; Kunkel y col. (1987) *Methods Enzymol.* 154:367-382; Sambrook y col. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor, New York); la patente de EE.UU. nº 4.873.192; y las referencias citadas en su interior. Orientación en cuanto a sustituciones apropiadas de aminoácidos que no afectan la actividad biológica del polipéptido de interés pueden encontrarse en el modelo de Dayhoff y col. (1978) en *Atlas of Protein Sequence and Structure* (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.), incorporado en el presente documento por referencia. Pueden preferirse sustituciones conservativas, tales como intercambiar un aminoácido con otro que tiene propiedades similares. Ejemplos de sustituciones conservativas incluyen, pero no se limitan a, Gly₄↔Ala, Val↔Ile↔Leu, Asp↔Glu,↔Lys↔Arg, Asn↔Gln, y Phe↔Trp↔Tyr.

Orientación en cuanto a regiones de la proteína IL-2 que pueden alterarse tanto mediante sustituciones, deleciones como inserciones de residuos pueden encontrarse en la materia. Véase, por ejemplo, las relaciones de estructura/función y/o estudios de unión tratados en Bazan (1992) *Science* 257:410-412; McKay (1992) *Science* 257:412; Theze y col. (1996) *Immunol. Today* 17:481-486; Buchli y Ciardelli (1993) *Arch. Biochem. Biophys.* 307:411-415; Collins y col. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85:7709-7713; Kuziel y col. (1993) *J. Immunol.* 150:5731; Eckenberg y col. (1997) *Cytokine* 9:488-498; cuyos contenidos se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad.

En la construcción de variantes del polipéptido IL-2 de interés se hacen modificaciones de forma que las variantes continúen poseyendo la actividad deseada. Obviamente, cualquier mutación hecha en el ADN que codifica el polipéptido de variante no debe colocar la secuencia fuera del marco de lectura y preferentemente no creará regiones complementarias que pudieran producir estructura de ARNm secundaria. Véase la publicación de solicitud de patente EP nº 75.444.

Las variantes biológicamente activas de IL-2 generalmente tendrán al menos aproximadamente el 70%, preferentemente al menos aproximadamente el 80%, más preferentemente al menos aproximadamente del 90% al 95% o más, y lo más preferentemente al menos aproximadamente el 98%, 99% o más de identidad de secuencias de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de la molécula de polipéptido IL-2 de referencia, tal como IL-2 humana nativa, que sirve de base para la comparación. El porcentaje de identidad de secuencias se determina usando el algoritmo de búsqueda de homología de Smith-Waterman usando una búsqueda de huecos afines con una penalización por apertura por hueco de 12 y una penalización por extensión de hueco de 2, matriz BLOSUM de 62. El algoritmo de búsqueda de homología de Smith-Waterman se enseña en Smith y Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482-489. Una variante puede diferenciarse por tan solo 1 a 15 residuos de aminoácidos, tan solo 1 a 10 residuos de aminoácidos, tales como 6-10, tan solo 5, tan solo 4, 3, 2, o incluso 1 residuo de aminoácido.

Con respecto al alineamiento óptimo de dos secuencias de aminoácidos, el segmento contiguo de la secuencia de aminoácidos de las variantes puede tener el mismo número de aminoácidos, residuos de aminoácidos adicionales o residuos de aminoácidos delecionados con respecto a la secuencia de aminoácidos de referencia. El segmento contiguo usado para la comparación con la secuencia de aminoácidos de referencia incluirá al menos 20 residuos de aminoácidos contiguos, y puede tener 30, 40, 50 o más residuos de aminoácidos. Pueden hacerse correcciones para identidad de secuencias asociada a sustituciones de residuos conservativos o huecos (véase el algoritmo de búsqueda de homología de Smith-Waterman). Una variante biológicamente activa de un polipéptido IL-2 nativo de interés puede diferenciarse del polipéptido nativo por tan solo 1-15 aminoácidos, tan solo 1-10, tal como 6-10, tan solo 5, tan solo 4, 3, 2, o incluso 1 residuo de aminoácido.

La estructura química precisa de un polipéptido que tiene actividad de IL-2 depende de varios factores. Como están presentes grupos amino y carboxilo ionizables en la molécula, un polipéptido particular puede obtenerse como un sal ácida o básica, o en forma neutra. Todas aquellas preparaciones que retienen su actividad biológica cuando se ponen en condiciones medioambientales adecuadas están incluidas en la definición de polipéptidos que tienen actividad de IL-2 como se usa en el presente documento. Además, la secuencia de aminoácidos primaria del

polipéptido puede aumentarse por derivatización usando restos de azúcar (glucosilación) o por otras moléculas suplementarias tales como lípidos, fosfato, grupos acetilo y similares. También puede aumentarse por conjugación con sacáridos. Ciertos aspectos de tal aumento se llevan a cabo mediante sistemas de procesamiento post-traduccional del huésped productor; otras modificaciones tales pueden introducirse *in vitro*. En cualquier caso, tales modificaciones están incluidas en la definición de un polipéptido IL-2 usado en el presente documento mientras que la actividad de IL-2 del polipéptido no se destruya. Se espera que tales modificaciones puedan afectar cuantitativamente o cualitativamente la actividad, tanto potenciando como disminuyendo la actividad del polipéptido, en los diversos ensayos. Además, residuos de aminoácidos individuales en la cadena pueden modificarse por oxidación, reducción u otra derivatización, y el polipéptido puede escindirse para obtener fragmentos que retienen actividad. Tales alteraciones que no destruyen la actividad no eliminan la secuencia de polipéptidos de la definición de polipéptidos IL-2 de interés como se usa en el presente documento.

La materia proporciona orientación sustancial referente a la preparación y uso de variantes de polipéptido. En la preparación de variantes de IL-2, un experto en la materia puede determinar fácilmente qué modificaciones a la secuencia de nucleótidos o de aminoácidos de la proteína nativa producirán una variante que sea adecuada para su uso como un componente terapéuticamente activo de una composición farmacéutica usada en los procedimientos de la presente invención.

La IL-2 o variantes de la misma para su uso en los procedimientos de la presente invención pueden ser de cualquier fuente, pero preferentemente se produce recombinantemente. Por "IL-2 recombinante" o "variante de IL-2 recombinante" está previsto interleucina-2 o variante de la misma que tiene actividad biológica comparable con IL-2 de secuencia nativa y que ha sido preparada por técnicas de ADN recombinante como se describen, por ejemplo, por Taniguchi y col. (1983) *Nature* 302:305-310 y Devos (1983) *Nucleic Acids Research* 11:4307-4323 o IL-2 mutacionalmente alterada como se describe por Wang y col. (1984) *Science* 224:1431-1433. En general, el gen que codifica IL-2 se clona y luego se expresa en organismos transformados, preferentemente un microorganismo, y lo más preferentemente *E. coli*, como se describe en el presente documento. El organismo huésped expresa el gen extraño para producir IL-2 bajo condiciones de expresión. La IL-2 recombinante sintética también puede prepararse en eucariotas, tales como células de levadura o humanas. Procedimientos para cultivar, recolectar, romper o extraer la IL-2 de células se describen sustancialmente en, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 4.604.377; 4.738.927; 4.656.132; 4.569.790; 4.748.234; 4.530.787; 4.572.798; 4.748.234; y 4.931.543, incorporadas en el presente documento por referencia en sus totalidades.

Para ejemplos de proteínas IL-2 de variante véase la publicación de patente europea (EP) n° EP 136.489 (que desvela una o más de las siguientes alteraciones en la secuencia de aminoácidos de IL-2 que se produce naturalmente: Asn26 a Gln26; Trp121 a Phe121; Cys58 a Ser58 o Ala58, Cys105 a Ser105 o Ala105; Cys125 a Ser125 o Ala125; delección de todos los siguientes residuos Arg 120; y las formas Met-1 de los mismos); y las muteínas recombinantes de IL-2 descritas en la solicitud de patente europea n° 83306221.9, presentada el 13 de octubre de 1983 (publicada el 30 de mayo de 1984 bajo la publicación n° EP 109.748), que es el equivalente a la patente belga n° 893.016 y la patente de EE.UU. del mismo solicitante n° 4.518.584 (que desvela muteína de IL-2 recombinante humana en la que la cisteína en la posición 125, numerada según IL-2 humana nativa, está delecionada o sustituida con un aminoácido neutro; alanil-ser125-IL-2; y des-alanil-ser125-IL-2). Véase también la patente de EE.UU. n° 4.752.585 (que desvela las siguientes proteínas IL-2 de variante: ala104 ser125 IL-2, ala104 IL-2, ala104 ala125 IL-2, val104 ser125 IL-2, val104 IL-2, val104 ala125 IL-2, des-ala1 ala104 ser125 IL-2, des-alal ala104 IL-2, des-ala1 ala104 ala125 IL-2, des-ala1 val104 ser125 IL-2, des-ala1 val104 IL-2, des-ala1 val104 ala125 IL-2, des-ala1 des-pro2 ala104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 ala104 IL-2, des-ala1 des-pro2 ala104 ala125 IL-2, des-alal des-pro2 val104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 val104 IL-2, des-ala1 des-pro2 val104 ala125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 ala104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 ala104 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 ala104 ala125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 val104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 val104 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 val104 ala125 IL-2, des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 ala104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 val104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 val104 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 val104 ala125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 ala104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 ala104 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 ala104 ala125 IL-2, des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 val104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 val104 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 ala104 ala125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 ala104 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 val104 ser125 IL-2, des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 val104 IL-2 y des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 val104 ala125 IL-2) y la patente de EE.UU. n° 4.931.543 (que desvela la muteína de IL-2 des-alanil-1, IL-2 humana de serina-125 usada en los ejemplos en el presente documento, además de las otras muteínas de IL-2).

Véase también la publicación de patente europea n° EP 200,280 (publicada el 10 de diciembre de 1986), que desvela muteínas de IL-2 recombinante en las que la metionina en la posición 104 se ha sustituido con un aminoácido conservativo. Ejemplos incluyen las siguientes muteínas: ser4 des-ser5 ala104 IL-2; des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 ala104 ala125 IL-2; des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 glu104 ser125 IL-2;

des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 glu104 IL-2; des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 glu104 ala125 IL-2; des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 ala104 ala125 IL-2; des-ala1 des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 ala104 IL-2; des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 ala104 ser125 IL-2; des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 glu104 ser125 IL-2; des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 glu104 IL-2; y des-alal des-pro2 des-thr3 des-ser4 des-ser5 des-ser6 glu104 ala125 IL-2. Véase también la publicación de patente europea nº 118.617 y la patente de EE.UU. nº 5.700.913, que desvelan variantes de IL-2 humana sin glucosilar que llevan alanina en lugar de metionina como aminoácido del extremo N como se encuentra en la molécula nativa; una IL-2 humana sin glucosilar con la metionina inicial deletada de forma que la prolina sea el aminoácido del extremo N; y una IL-2 humana sin glucosilar con una alanina insertada entre la metionina del extremo N y aminoácidos de prolina.

Otras muteínas de IL-2 incluyen las desveladas en el documento WO 99/60128 (sustituciones de aspartato en la posición 20 con histidina o isoleucina, la asparagina en la posición 88 con arginina, glicina o isoleucina, o la glutamina en la posición 126 con leucina o ácido glutámico), que supuestamente tienen actividad selectiva para receptores de IL-2 a alta afinidad expresados por células que expresan receptores de linfocito T en preferencia a células NK y toxicidad de IL-2 reducida; las muteínas desveladas en la patente de EE.UU. nº 5.229.109 (sustituciones de arginina en la posición 38 con alanina, o sustituciones de fenilalanina en la posición 42 con lisina), que presentan unión reducida a receptor de IL-2 a alta afinidad cuando se compara con IL-2 nativa, mientras que mantenga la capacidad para estimular células LAK; las muteínas desveladas en la publicación internacional nº WO 00/58456 (alterar o deletar una secuencia de (x)D(y) que se produce naturalmente en IL-2 nativa en la que D es ácido aspártico, (x) es leucina, isoleucina, glicina o valina, y (y) es valina, leucina o serina), que se reivindican que reducen síndrome de fuga vascular; el péptido p1-30 de IL-2 desvelado en la publicación internacional nº WO 00/04048 (correspondiente a los 30 primeros aminoácidos de IL-2, que contienen la a-hélice A entera de IL-2 e interacciona con la cadena b del receptor de IL-2), que supuestamente estimula células NK y la inducción de células LAK; y una forma mutante del péptido p1-30 de IL-2 también desvelado en el documento WO 00/04048 (sustitución de ácido aspártico en la posición 20 con lisina), que supuestamente no puede inducir hemorragias vasculares, pero que sigue pudiendo generar células LAK. Adicionalmente, IL-2 puede modificarse con polietilenglicol para proporcionar solubilidad potenciada y un perfil farmacocinético alterado (véase la patente de EE.UU. nº 4.766.106).

Ejemplos adicionales de muteínas de IL-2 con toxicidad reducida predicha se desvelan en la solicitud provisional de EE.UU. nº de serie 60/550.868, presentada el 5 de marzo de 2004, incorporada en el presente documento por referencia en su totalidad. Estas muteínas comprenden la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana madura con una serina sustituida por cisteína en la posición 125 de la secuencia de IL-2 humana madura y al menos una sustitución de aminoácidos adicional dentro de la secuencia de IL-2 humana madura de forma que la muteína tenga las siguientes características funcionales: 1) mantenga o potencie la proliferación de linfocitos citotóxicos espontáneos (NK), y 2) induzca un nivel reducido de producción de citocinas pro-inflamatorias por células NK; en comparación con una cantidad similar de des-alanil-1, IL-2 humana de C125S o IL-2 humana de C125S bajo condiciones de ensayo comparables. En algunas realizaciones, la sustitución adicional está seleccionada del grupo que consiste en T7A, T7D, T7R, K8L, K9A, K9D, K9R, K9S, K9V, K9W, T10K, T10N, Q11A, Q11R, Q11T, E15A, H16D, H16E, L19D, L19E, D20E, I24L, K32A, K32W, N33E, P34E, P34R, P34S, P34T, P34V, K35D, K35I, K35L, K35M, K35N, K35P, K35Q, K35T, L36A, L36D, L36E, L36F, L36G, L36H, L36I, L36K, L36M, L36N, L36P, L36R, L36S, L36W, L36Y, R38D, R38G, R38N, R38P, R38S, L40D, L40G, L40N, L40S, T41E, T41G, F42A, F42E, F42R, F42T, F42V, K43H, F44K, M46I, E61K, E61M, E61R, E62T, E62Y, K64D, K64E, K64G, K64L, K64Q, K64R, P65D, P65E, P65F, P65G, P65H, P65I, P65K, P65L, P65N, P65Q, P65R, P65S, P65T, P65V, P65W, P65Y, L66A, L66F, E67A, L72G, L72N, L72T, F78S, F78W, H79F, H79M, H79N, H79P, H79Q, H79S, H79V, L80E, L80F, L80G, L80K, L80N, L80R, L80T, L80V, L80W, L80Y, R81E, R81K, R81L, R81M, R81N, R81P, R81T, D84R, S87T, N88D, N88H, N88T, V91A, V91D, V91E, V91F, V91G, V91N, V91Q, V91W, L94A, L94I, L94T, L94V, L94Y, E95D, E95G, E95M, T102S, T102V, M104G, E106K, Y107H, Y107K, Y107L, Y107Q, Y107R, Y107T, E116G, N119Q, T123S, T123C, Q126I y Q126V; en las que la posición del residuo de aminoácido es con respecto a la numeración de la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana madura. En otras realizaciones, estas muteínas comprenden la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana madura con una alanina sustituida por cisteína en la posición 125 de la secuencia de IL-2 humana madura y al menos una sustitución adicional de aminoácidos dentro de la secuencia de IL-2 humana madura de forma que la muteína tenga estas mismas características funcionales. En algunas realizaciones, la sustitución adicional está seleccionada del grupo que consiste en T7A, T7D, T7R, K8L, K9A, K9D, K9R, K9S, K9V, K9W, T10K, T10N, Q11A, Q11R, Q11T, E15A, H16D, H16E, L19D, L19E, D20E, I24L, K32A, K32W, N33E, P34E, P34R, P34S, P34T, P34V, K35D, K35I, K35L, K35M, K35N, K35P, K35Q, K35T, L36A, L36D, L36E, L36F, L36G, L36H, L36I, L36K, L36M, L36N, L36P, L36R, L36S, L36W, L36Y, R38D, R38G, R38N, R38P, R38S, L40D, L40G, L40N, L40S, T41E, T41G, F42A, F42E, F42R, F42T, F42V, K43H, F44K, M46I, E61K, E61M, E61R, E62T, E62Y, K64D, K64E, K64G, K64L, K64Q, K64R, P65D, P65E, P65F, P65G, P65H, P65I, P65K, P65L, P65N, P65Q, P65R, P65S, P65T, P65V, P65W, P65Y, L66A, L66F, E67A, L72G, L72N, L72T, F78S, F78W, H79F, H79M, H79N, H79P, H79Q, H79S, H79V, L80E, L80F, L80G, L80K, L80N, L80R, L80T, L80V, L80W, L80Y, R81E, R81K, R81L, R81M, R81N, R81P, R81T, D84R, S87T, N88D, N88H, N88T, V91A, V91D, V91E, V91F, V91G, V91N, V91Q, V91W, L94A, L94I, L94T, L94V, L94Y, E95D, E95G, E95M, T102S, T102V, M104G, E106K, Y107H, Y107K, Y107L, Y107Q, Y107R, Y107T, E116G, N119Q, T123S, T123C, Q126I y Q126V; en las que la posición del residuo de aminoácido es con respecto a la numeración de la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana madura. En realizaciones alternativas, estas muteínas comprenden la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana madura con al menos una sustitución adicional de

aminoácidos dentro de la secuencia de IL-2 humana madura de forma que la muteína tenga estas mismas características funcionales. En algunas realizaciones, la sustitución adicional está seleccionada del grupo que consiste en T7A, T7D, T7R, K8L, K9A, K9D, K9R, K9S, K9V, K9W, T10K, T10N, Q11A, Q11R, Q11T, E15A, H16D, H16E, L19D, L19E, D20E, I24L, K32A, K32W, N33E, P34E, P34R, P34S, P34T, P34V, K35D, K35I, K35L, K35M, K35N, K35P, K35Q, K35T, L36A, L36D, L36E, L36F, L36G, L36H, L36I, L36K, L36M, L36N, L36P, L36R, L36S, L36W, L36Y, R38D, R38G, R38N, R38P, R38S, L40D, L40G, L40N, L40S, T41E, T41G, F42A, F42E, F42R, F42T, F42V, K43H, F44K, M46I, E61K, E61M, E61R, E62T, E62Y, K64D, K64E, K64G, K64L, K64Q, K64R, P65D, P65E, P65F, P65G, P65H, P65I, P65K, P65L, P65N, P65Q, P65R, P65S, P65T, P65V, P65W, P65Y, L66A, L66F, E67A, L72G, L72N, L72T, F78S, F78W, H79F, H79M, H79N, H79P, H79Q, H79S, H79V, L80E, L80F, L80G, L80K, L80N, L80R, L80T, L80V, L80W, L80Y, R81E, R81K, R81L, R81M, R81N, R81P, R81T, D84R, S87T, N88D, N88H, N88T, V91A, V91D, V91E, V91F, V91G, V91N, V91Q, V91W, L94A, L94I, L94T, L94V, L94Y, E95D, E95G, E95M, T102S, T102V, M104G, E106K, Y107H, Y107K, Y107L, Y107Q, Y107R, Y107T, E116G, N119Q, T123S, T123C, Q126I y Q126V; en las que la posición del residuo de aminoácido es con respecto a la numeración de la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana madura. Muteínas adicionales desveladas en la solicitud provisional de EE.UU. n° de serie 6.0/550.868 incluyen las anteriores muteínas identificadas, con la excepción de las que tienen el residuo de alanina inicial en la posición 1 de la secuencia de IL-2 humana madura delecionada.

El término IL-2 como se usa en el presente documento también está previsto que incluya fusiones o conjugados de IL-2 que comprenden IL-2 fusionada con una segunda proteína o covalentemente conjugada con poliprolina o un polímero soluble en agua para reducir las frecuencias de dosificación o para mejorar la tolerabilidad de IL-2. Por ejemplo, la IL-2 (o una variante de la misma como se define en el presente documento) puede fusionarse con albúmina humana o un fragmento de albúmina usando procedimientos conocidos en la técnica (véase el documento WO 41/79258). Alternativamente, la IL-2 puede conjugarse covalentemente con poliprolina u homopolímeros de polietilenglicol y polioles polioxietilados, estando el homopolímero sin sustituir o sustituido en un extremo con un grupo alquilo y el poliolo está sin sustituir, usando procedimientos conocidos en la técnica (véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n° 4.766.106, 5.206.344, 4.894.226 y 5.830.452).

Cualquier composición farmacéutica que comprenda IL-2 como componente terapéuticamente activo puede usarse en los procedimientos de la invención. Tales composiciones farmacéuticas se conocen en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, las desveladas en las patentes de EE.UU. n° 4.745.180; 4.766.106; 4.816.440; 4.894.226; 4.931.544; y 5.078.997; incorporadas en el presente documento por referencia. Así, composiciones líquidas, liofilizadas o secadas por pulverización que comprenden IL-2 o variantes de la misma que se conocen en la técnica pueden prepararse como una disolución o suspensión acuosa o no acuosa para posterior administración a un sujeto según los procedimientos de la invención. Cada una de estas composiciones comprenderá IL-2 o variantes de la misma como un componente terapéuticamente o profilácticamente activo. Por "componente terapéuticamente o profilácticamente activo" está previsto que la IL-2 o variantes de la misma se incorporen específicamente en la composición para provocar una respuesta terapéutica o profiláctica deseada con respecto al tratamiento o prevención de una enfermedad o afección dentro de un sujeto cuando la composición farmacéutica se administra a ese sujeto. Preferentemente, las composiciones farmacéuticas comprenden agentes estabilizantes apropiados, agentes de carga, o ambos, para minimizar los problemas asociados a la pérdida de estabilidad de la proteína y actividad biológica durante la preparación y almacenamiento.

En realizaciones preferidas de la invención, la IL-2 que contiene composiciones farmacéuticas útiles en los procedimientos de la invención son composiciones que comprenden IL-2 monomérica estabilizada o variantes de la misma, composiciones que comprenden IL-2 multimérica o variantes de la misma, y composiciones que comprenden IL-2 liofilizada o secada por pulverización estabilizada o variantes de la misma.

Composiciones farmacéuticas que comprenden IL-2 monomérica estabilizada o variantes de la misma se desvelan en la solicitud PCT n° PCT/US00/27156, presentada el 3 de octubre de 2000, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia. Por IL-2 "monomérica" están previstas las moléculas de proteína que están sustancialmente presentes en su forma monomérica, no en una forma agregada, en las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento. De ahí que no estén presentes oligómeros covalentes o hidrófobos o agregados de IL-2. Brevemente, la IL-2 o variantes de la misma en estas composiciones líquidas se formulan con una cantidad de una base de aminoácido suficiente para reducir la formación de agregados de IL-2 o variantes de la misma durante almacenamiento. La base de aminoácido es un aminoácido o una combinación de aminoácidos, estando presente cualquier aminoácido dado tanto en su forma de base libre como en su forma de sal. Aminoácidos preferidos se seleccionan del grupo que consiste en arginina, lisina, ácido aspártico y ácido glutámico. Estas composiciones comprenden además un agente de tamponamiento para mantener el pH de las composiciones líquidas dentro de un intervalo aceptable para estabilidad de IL-2 o variantes de la misma, siendo el agente de tamponamiento un ácido sustancialmente libre de su forma de sal, un ácido en su forma de sal, o una mezcla de un ácido y su forma de sal. Preferentemente, el ácido está seleccionado del grupo que consiste en ácido succínico, ácido cítrico, ácido fosfórico y ácido glutámico. Tales composiciones se denominan en el presente documento composiciones farmacéuticas de IL-2 monoméricas estabilizadas.

La base de aminoácido en estas composiciones sirve para estabilizar la IL-2 o variantes de la misma contra la formación de agregados durante el almacenamiento de la composición farmacéutica líquida, mientras que el uso de

un ácido sustancialmente libre de su forma de sal, un ácido en su forma de sal, o una mezcla de un ácido y su forma de sal como agente de tamponamiento, produce una composición líquida que tiene una osmolaridad que es casi isotónica. La composición farmacéutica líquida puede incorporar adicionalmente otros agentes estabilizantes, más particularmente metionina, un tensioactivo no iónico tal como polisorbato 80, y EDTA, para aumentar adicionalmente la estabilidad del polipéptido. Se dice que tales composiciones farmacéuticas líquidas están estabilizadas, ya que la adición de base de aminoácido en combinación con un ácido sustancialmente libre de su forma de sal, un ácido en su forma de sal, o una mezcla de un ácido y su forma de sal, produce composiciones que tienen elevada estabilidad durante el almacenamiento con respecto a composiciones farmacéuticas líquidas formuladas en ausencia de la combinación de estos dos componentes.

Estas composiciones farmacéuticas líquidas que comprenden IL-2 monomérica estabilizada o variantes de la misma pueden tanto usarse en una forma de líquido acuoso como guardarse para usarse después en un estado congelado, o en una forma seca para reconstituir después en una forma líquida u otra forma adecuada para administración a un sujeto según los procedimientos de la presente invención. Por "forma seca" está previsto que la composición farmacéutica líquida o formulación se seque tanto por secado por congelación (es decir, liofilización; véase, por ejemplo, Williams y Polli (1984) *J. Parenteral Sci. Technol.* 38:48-59), secado por pulverización (véase Masters (1991) en *Spray-Drying Handbook* (5ª ed; Longman Scientific y Technical, Essex, RU), pág. 491-676; Broadhead y col. (1992) *Drug Devel. Ind. Pharm.* 18:1169-1206; y Mumenthaler y col. (1994) *Pharm. Res.* 11:12-20), o secado por aire (Carpenter y Crowe (1988) *Cryobiology* 25:459-470; y Roser (1991) *Biopharm.* 4:47-53).

Otros ejemplos de formulaciones de IL-2 que comprenden IL-2 en su estado monomérico no agregado incluyen aquellos descritos en Whittington y Faulds (1993) *Drugs* 46(3):446-514. Estas formulaciones incluyen el producto de IL-2 recombinante en el que la muteína de IL-2 recombinante Teceleukin (IL-2 humana sin glucosilar con un residuo de metionina añadido al extremo amino) se formula con 0,25% de albúmina de suero humano en un polvo liofilizado que se reconstituye en solución salina isotónica, y la muteína de IL-2 recombinante Bioleukin (IL-2 humana con un residuo de metionina añadido al extremo amino, y una sustitución del residuo de cisteína en la posición 125 de la secuencia de IL-2 humana con alanina) se formula tal que 0,1 a 1,0 mg/ml de IL-2 muteína se combine con ácido, teniendo la formulación un pH de 3,0 a 4,0, ventajosamente sin tampón, y una conductividad inferior a 1000 mmhos/cm (ventajosamente inferior a 500 mmhos/cm). Véanse el documento EP 373,679; Xhang y col. (1996) *Pharmaceut. Res.* 13(4):643-644; y Prestrelski y col. (1995) *Pharmaceut. Res.* 12(9):1250-1258.

Ejemplos de composiciones farmacéuticas que comprenden IL-2 multimérica o variantes de la misma se desvelan en la patente de EE.UU. del mismo solicitante n° 4.604.377, cuya divulgación se incorpora en el presente documento por referencia. Por "multimérica" está previsto que las moléculas de proteína estén presentes en la composición farmacéutica en una forma microagregada que tiene una asociación molecular promedio de 10-50 moléculas. Estos multimeros están presentes como moléculas de IL-2 físicamente asociadas unidas de forma suelta. Una forma liofilizada de estas composiciones está disponible comercialmente bajo la marca comercial Proleukin® (Chiron Corporation, Emeryville, California). Las formulaciones liofilizadas desveladas en esta referencia comprenden IL-2 recombinante microbianamente producida selectivamente oxidada en la que la IL-2 recombinante se mezcla con un vehículo soluble en agua tal como manitol que proporciona masa, y una cantidad suficiente de dodecilsulfato de sodio para garantizar la solubilidad de la IL-2 recombinante en agua. Estas composiciones son adecuadas para reconstitución en inyecciones acuosas para administración parenteral y son estables y bien toleradas en pacientes humanos. Cuando se reconstituyen, la IL-2 o variantes de la misma retienen su estado multimérico. Tales composiciones liofilizadas o líquidas que comprenden IL-2 multimérica o variantes de la misma están englobadas por los procedimientos de la presente invención. Tales composiciones se denominan en el presente documento composiciones farmacéuticas de IL-2 multimérica.

Los procedimientos de la presente invención también pueden usar composiciones farmacéuticas liofilizadas o secadas por pulverización estabilizadas que comprenden IL-2 o variantes de la misma, que pueden reconstituirse en un líquido u otra forma adecuada para administración según procedimientos de la invención. Tales composiciones farmacéuticas se desvelan en la solicitud de EE.UU. pendiente de tramitación n° de serie 09/724.810, presentada el 28 de noviembre de 2000 y la solicitud internacional PCT/US00/35452, presentada el 27 de diciembre de 2000, incorporadas en el presente documento por referencia en sus totalidades. Estas composiciones pueden comprender además al menos un agente de carga, al menos un agente en una cantidad suficiente para estabilizar la proteína durante el procedimiento de secado, o ambos. Por "estabilizado" está previsto que la proteína IL-2 o variantes de la misma retengan su forma monomérica o multimérica, además de sus otras propiedades clave de calidad, pureza y potencia tras la liofilización o secado por pulverización para obtener la forma sólida o de polvo seco de la composición. En estas composiciones, materiales de vehículo preferidos para su uso como agente de carga incluyen glicina, manitol, alanina, valina, o cualquier combinación de los mismos, lo más preferentemente glicina. El agente de carga está presente en la formulación en el intervalo del 0% a aproximadamente el 10% (peso/volumen), que depende del agente usado. Materiales de vehículo preferidos para su uso como agente estabilizante incluyen cualquier azúcar o alcohol de azúcar o cualquier aminoácido. Azúcares preferidos incluyen sacarosa, trehalosa, rafinosa, estaquiosa, sorbitol, glucosa, lactosa, dextrosa o cualquier combinación de los mismos, preferentemente sacarosa. Si el agente estabilizante es un azúcar, está presente en el intervalo de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 9,0% (peso/volumen), preferentemente de aproximadamente el 0,5% a aproximadamente el 5,0%, más preferentemente de aproximadamente el 1,0% a aproximadamente el 3,0%, lo más preferentemente de

aproximadamente el 1,0%. Si el agente estabilizante es un aminoácido, está presente en el intervalo de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 1,0% (peso/volumen), preferentemente de aproximadamente el 0,3% a aproximadamente el 0,7%, lo más preferentemente de aproximadamente el 0,5%. Estas composiciones liofilizadas o secadas por pulverización estabilizadas pueden comprender opcionalmente metionina, ácido etilendiaminatetrácido (EDTA) o una de sus sales tales como EDTA de sodio u otro agente quelante, que protegen la IL-2 o variantes de la misma contra la oxidación de metionina. El uso de estos agentes de este modo se describe en la solicitud provisional de EE.UU. en tramitación junto con la presente nº de serie 60/157696, incorporada en el presente documento por referencia. Las composiciones liofilizadas o secadas por pulverización estabilizadas pueden formularse usando un agente de tamponamiento, que mantiene el pH de la composición farmacéutica dentro de un intervalo aceptable, preferentemente entre aproximadamente pH 4,0 y aproximadamente pH 8,5, cuando está en una fase líquida, tal como durante el procedimiento de formulación o tras la reconstitución de la forma secada de la composición. Los tampones se eligen de forma que sean compatibles con el procedimiento de secado y no afecten la calidad, pureza, potencia y estabilidad de la proteína durante el procesamiento y tras el almacenamiento.

Las composiciones farmacéuticas de IL-2 monoméricas estabilizadas, multiméricas y liofilizadas o secadas por pulverización estabilizadas previamente descritas representan composiciones adecuadas para su uso en los procedimientos de la invención. Sin embargo, cualquier composición farmacéutica que comprenda IL-2 o variante de la misma como componente terapéuticamente activo está englobada por los procedimientos de la invención.

Administración

Se administrará al menos un ciclo de tratamiento terapéuticamente eficaz con bajas dosis de IL-2 o una variante de la misma. Por "ciclo de tratamiento terapéuticamente eficaz" está previsto un ciclo de tratamiento que, cuando se administre, provoque una respuesta terapéutica positiva con respecto al tratamiento de un individuo para carcinoma de células renales, particularmente carcinoma de células renales metastásico. De particular interés es un ciclo de tratamiento con bajas dosis de IL-2 que proporciona un efecto antitumoral, como se define en el presente documento. Por "respuesta terapéutica positiva" está previsto que el individuo que se someta al tratamiento según la invención presente una mejora en uno o más síntomas de carcinoma de células renales para los que el individuo está recibiendo terapia.

Así, por ejemplo, una "respuesta terapéutica positiva" sería una mejora en la enfermedad en asociación con la terapia, y/o una mejora en uno o más síntomas de la enfermedad en asociación con la terapia. Por tanto, por ejemplo, una respuesta terapéutica positiva se referiría a una o más de las siguientes mejoras en la enfermedad: (1) reducción en el tamaño del tumor; (2) reducción en el número de células cancerosas; (3) inhibición (es decir, ralentizamiento a cierto grado, preferentemente detención) del crecimiento tumoral; (4) inhibición (es decir, ralentizamiento a cierto grado, preferentemente detención) de la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; (5) inhibición (es decir, ralentizamiento a cierto grado, preferentemente detención) de metástasis tumoral; y (6) algún grado de alivio de uno o más síntomas asociados al cáncer. Tales respuestas terapéuticas pueden caracterizarse adicionalmente en cuanto al grado de mejora. Así, por ejemplo, una mejora puede caracterizarse como una respuesta completa. Por "respuesta completa" está prevista la documentación de la desaparición de todos los síntomas y signos de toda enfermedad medible o evaluable confirmada por examen físico, estudios de laboratorio, nucleares y radiográficos (es decir, TC (tomografía computerizada) y/o RMN (resonancia magnética nuclear)), y otros procedimientos no invasivos repetidos para todas las anomalías iniciales o sitios positivos en el momento de entrar en el estudio. Alternativamente, una mejora en la enfermedad puede clasificarse como que es una respuesta parcial. Por "respuesta parcial" está prevista una reducción superior al 50% en la suma de los productos de los diámetros perpendiculares de todas las lesiones medibles cuando se comparan con mediciones de pretratamiento, y ninguna progresión de enfermedad evaluable, ni formación de ninguna nueva lesión, durante al menos 28 días.

En ciertas realizaciones de la invención, la composición farmacéutica que comprende IL-2 o una variante de la misma es una formulación de liberación sostenida, o una formulación que se administra usando un dispositivo de liberación sostenida. Tales dispositivos son muy conocidos en la técnica e incluyen, por ejemplo, parches transdérmicos y bombas implantables en miniatura que pueden proporcionar la administración del fármaco con el tiempo en un modo en estado estacionario continuo a una variedad de dosis para lograr un efecto de liberación sostenida con una composición farmacéutica de no liberación sostenida.

Composiciones farmacéuticas que comprenden IL-2 o una variante de la misma pueden administrarse según cualquier procedimiento médicamente aceptable conocido en la técnica. Vías de administración adecuadas incluyen administración parenteral, tal como subcutánea (SC), intraperitoneal (IP), intramuscular (IM), intravenosa (IV) o infusión, oral y pulmonar, nasal, tópica, transdérmica y supositorios. Si la composición se administra por administración pulmonar, la dosis terapéuticamente eficaz se ajusta de forma que el nivel soluble del agente, tal como la IL-2 o variante de la misma, en la circulación sanguínea sea equivalente al obtenido con una dosis terapéuticamente eficaz que se administra parenteralmente, por ejemplo SC, IP, IM o IV. En algunas realizaciones de la invención, la composición farmacéutica que comprende IL-2 o una variante de la misma se administra por inyección IM o SC, particularmente por inyección IM o SC, localmente a la región en la que se administran el agente terapéutico o agentes usados en el protocolo de terapia contra el cáncer.

Factores que influyen en la cantidad de IL-2 que va a administrarse incluyen, pero no se limitan a, el modo de administración, la frecuencia de administración, la enfermedad particular que se somete a terapia, la gravedad de la enfermedad, la historia de la enfermedad, si el individuo está recibiendo o no terapia simultánea con otro agente terapéutico, y la edad, altura, peso, salud y condición física del individuo que recibe la terapia. Generalmente, se prefiere una mayor dosificación de este agente con peso creciente del sujeto que recibe la terapia.

Con el fin de lograr eficacia, el nivel de IL-2 en sangre debe estar por encima de un nivel específico durante un tiempo específico. La eficacia es dependiente de la dosis, y niveles mayores de IL-2 contribuyen a mayores efectos antitumorales. Con el fin de minimizar la toxicidad, el nivel de IL-2 en sangre debe estar por debajo de un cierto nivel dentro de un tiempo específico y durante un tiempo específico (debe haber un "periodo de descanso" para permitir la eliminación de IL-2). Es decir, el fármaco debe estar por debajo de un cierto nivel un cierto tiempo antes de que se administre la siguiente dosis. Descansos más cortos entre dosis contribuyen a mayor toxicidad.

En ciertos aspectos, el tratamiento de un paciente que tiene carcinoma de células renales comprende un ciclo de tratamiento con IL-2 a baja dosis seguido de un periodo de descanso para permitir que el paciente se "recupere" de los efectos no deseables de la IL-2. Pueden administrarse múltiples dosis de IL-2 o una variante de la misma según una pauta de dosificación diaria, preferentemente se administran 9-18 MUI de IL-2 por día en una a tres dosis por día, durante tres a seis días a la semana, durante 1-24 semanas, seguido de un periodo de descanso. Preferentemente, el periodo de descanso es de una a cuatro semanas entre pautas de dosificación. Después puede administrarse un nuevo programa de dosificación de IL-2 para proveer al sistema inmunitario de otro refuerzo. En ciertas realizaciones, el segundo ciclo de tratamiento comprende administrar 9 MUI en una a tres dosis por día, durante tres a seis días a la semana, durante 1-24 semanas, seguido de un periodo de descanso.

En ciertas realizaciones, el procedimiento de tratamiento de un paciente que tiene carcinoma de células renales comprende un ciclo de tratamiento que consiste en seis semanas de tratamiento con IL-2 a baja dosis (9-18 MUI), una vez al día durante cinco días a la semana (qd x 5d), seguido de un "periodo de descanso" de una a cuatro semanas en el que no se administra IL-2 y un ciclo de tratamiento posterior que consiste en seis semanas de tratamiento con IL-2 a una dosis de 9 MUI una vez al día durante cinco días a la semana, seguido de un periodo de descanso de una a cuatro semanas en el que no se administra IL-2. En ciertas realizaciones, el posterior ciclo de tratamiento que consiste en seis semanas de tratamiento con IL-2 a una dosis de 9 MUI una vez al día durante cinco días a la semana, seguido de un periodo de descanso de una a cuatro semanas en el que no se administra IL-2, se repite múltiples veces.

En una realización preferida, un paciente que tiene carcinoma de células renales se trata primero, administrando una dosis de 18 MUI de IL-2 por día durante 5 días durante una semana; segundo, administrando una dosis de 9 MUI de IL-2 por día durante 2 días seguido de administrar una dosis de 18 MUI de IL-2 por día durante 3 días durante cada semana, repetida durante 5 semanas; tercero, no administrando IL-2 durante 3 semanas; cuarto, administrando una dosis de 9 MUI de IL-2 por día durante 5 días de cada semana, repetida durante 6 semanas; y quinto, no administrando IL-2 durante 3 semanas.

En ciertos aspectos, la IL-2 usada para el tratamiento de un paciente que tiene carcinoma de células renales está covalentemente conjugada con polietilenglicol o poliol polioxietilado.

En ciertas realizaciones, múltiples ciclos de tratamiento por cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento se administran a un paciente durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar al menos una respuesta tumoral parcial, por ejemplo, el periodo de tiempo puede ser al menos 6 meses o al menos 12 meses. Preferentemente, el periodo de tiempo es suficiente para efectuar una respuesta tumoral completa.

En ciertas realizaciones, un paciente que tiene carcinoma de células renales es renalmente insuficiente ($SCr > 1,5$ mg/dl), intolerante o inelegible para el tratamiento con IL-2 a alta dosis. Un paciente tal puede tratarse con IL-2 a baja dosis por cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento.

Si un sujeto que recibe terapia según las pautas de dosificación previamente mencionadas presenta una respuesta parcial, o una recaída tras un periodo de remisión prolongado, pueden necesitarse ciclos de terapia posteriores para lograr la remisión completa de la enfermedad. Así, posterior a un periodo de tiempo libre desde un primer periodo de tratamiento, un sujeto puede recibir uno o más periodos de tratamiento adicionales de terapia con IL-2. Un periodo de tiempo libre tal entre periodos de tratamiento se denomina en el presente documento un periodo de tiempo de suspensión. Se reconoce que la longitud del periodo de tiempo de suspensión depende del grado de respuesta tumoral (es decir, completa frente a parcial) conseguida con cualquier periodo de tratamiento previo de terapia con IL-2.

III. Parte experimental

A continuación hay ejemplos de realizaciones específicas para llevar a cabo la presente invención. Los ejemplos se ofrecen para fines ilustrativos solo, y no pretenden limitar el alcance de la presente invención de ningún modo.

Se han hecho esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.), pero debe, por supuesto, permitirse algún error experimental y desviación.

Ejemplo 1

5

Composición farmacéutica de IL-2 para ensayo clínico humano de fase IV

La formulación de IL-2 usada se fabricó por Chiron Corporation de Emeryville, California, bajo el nombre comercial Proleukin®. La IL-2 en esta formulación es una muteína de IL-2 humana recombinantemente producida, sin glucosilar, llamada aldesleucina, que se diferencia de la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana nativa en que tiene el residuo de alanina inicial eliminado y el residuo de cisteína en la posición 125 sustituido por un residuo de serina (denominado des-alanil-1, serina-125-interleucina-2 humana). Esta muteína de IL-2 se expresa en *E. coli*, y posteriormente se purifica por diafiltración y cromatografía de intercambio catiónico como se describe en la patente de EE.UU. n° 4.931.543, incorporada en el presente documento por referencia en su totalidad. La formulación de IL-2 comercializada como Proleukin® se suministra como un polvo liofilizado sin conservantes de blanco a blanquecino estéril en viales que contienen 1,3 mg de proteína (22 MUl).

Ejemplo 2

20 Criterios de selección para pacientes con carcinoma de células renales metastásico para el tratamiento con IL-2 en ensayo clínico humano de fase IV

Los siguientes criterios de selección se aplicaron a pacientes con carcinoma de células renales metastásico:

25 Criterios de inclusión:

El paciente tiene carcinoma de células renales histológicamente documentado (tumores mixtos o sarcomatoides papilares de células claras) con evidencia de enfermedad metastásica;

30 El paciente tiene enfermedad neoplásica medible o evaluable que se determina en el plazo de cuatro semanas desde la entrada en el estudio;

La escala de rendimiento de Karnofsky del paciente es ≥ 60 , correspondiente a una escala de rendimiento (ER) del grupo oncológico cooperativo del este (ECOG) de 0-2;

35

Los pacientes deben tener más de 18 años de edad;

Los pacientes deben tener función renal adecuada como se demuestra por un nivel de creatinina en suero inferior a 1,8 mg/dl;

40

Hemoglobina ≥ 10 gm/dl; leucocitos ≥ 4.000 /ml; plaquetas ≥ 100.000 /ml;

Nivel normal de hormona estimulante tiroidea (TSH); y

45 El paciente está dispuesto y puede dar consentimiento informado por escrito para participar en este estudio, que incluye todos los procedimientos de estudio requeridos y visitas de seguimiento.

Criterios de exclusión:

50 El paciente ha tenido tratamiento previo con Proleukin®;

Pacientes con enfermedad activa en el sistema nervioso central detectada por tomografía computerizada (TC) o resonancia magnética nuclear (RMN);

55 El paciente tiene hipersensibilidad conocida a cualquiera de los componentes de Proleukin®;

El paciente está en ensayos clínicos simultáneos que implican agentes en investigación, o el paciente ha recibido agentes en investigación en el plazo de las cuatro semanas precedentes; el paciente ha tenido terapia sistémica previa para carcinoma de células renales (los pacientes que se han sometido a cirugía para carcinoma de células renales son elegibles para inclusión; los pacientes que han recibido radioterapia para una lesión de no referencia son elegibles para el estudio dos semanas después de completarse la radiación);

60

El paciente tiene enfermedad cardíaca de clase III o IV de la Asociación cardíaca de Nueva York (NYHA);

65 El paciente tiene enfermedades autoinmunitarias conocidas tales como enfermedad de Crohn;

La paciente está embarazada o dando el pecho; y

El paciente tiene enfermedad metastásica sin signos de enfermedad tras la resección quirúrgica de las metástasis.

Ejemplo 3

Estudio clínico de fase IV de IL-2 a baja dosis administrada a seres humanos

Diseño y objetivos del estudio clínico

El estudio clínico de fase IV de interleucina-2 en una dosis alternativa (ILIAD) se diseñó como un estudio prospectivo, multicentro, de un solo brazo de etiqueta abierta para evaluar la eficacia y seguridad de Proleukin® a baja dosis administrada subcutáneamente en pacientes con carcinoma de células renales metastásico. El criterio de valoración primario fue una tasa de respuesta objetiva (TRO) ≥ 16%. Los criterios de valoración secundarios incluyeron tasas de respuesta completa (RC) y respuesta parcial (RP), duración de la respuesta, supervivencia libre de progresión (LP), supervivencia global (SG) e incidencia de acontecimientos adversos (AA). Los participantes incluyeron investigadores clínicos de tanto entornos de la comunidad como académicos, con un predominio de profesionales clínicos de la comunidad. El estudio ILIAD cribó a 270 pacientes, de los cuales se enrolaron 267.

Las evaluaciones de pretratamiento incluyeron una historia completa, examen físico, hemograma completo (CBC), panel de química del suero, nivel de hormona estimulante tiroidea (TSH) y estudios radiográficos apropiados para documentar sitios de enfermedad metastásica. Las evaluaciones durante el tratamiento incluyeron un CBC, panel de química del suero, TSH y examen físico antes del inicio de cada nuevo ciclo de tratamiento, un CBC antes de la semana cuatro en cada ciclo de tratamiento, y evaluación de AE en cada contacto con el paciente. Antes de empezar cada nuevo ciclo de tratamiento después del ciclo 2 se requirieron evaluaciones radiográficas de sitios previamente detectados de enfermedad metastásica. Los cuadernos de recogida de datos documentaron áreas evaluables de enfermedad metastásica y los procedimientos usados para hacer tal determinación.

Pauta de tratamiento de ILIAD

Todos los pacientes recibieron Proleukin® en el siguiente programa de tratamiento:

Marco de tiempo	Tratamiento Proleukin®
Ciclo 1, Semana 1	18 MIU qd x 5 días
Ciclo 1, Semana 2-6	9 MIU qd x 2 días + 18 MIU qd x 3 días
Ciclo 1, Semana 7-9	resto
1-6	9 MIU qd x 5 días
Ciclos posteriores Semanas 7-9	resto

Proleukin® se administró a 18 millones de unidades internacionales (MUI)/día durante 5 días (semana 1, ciclo 1), 9 MUI/día durante 2 días, seguido de 18 MUI/día durante 3 días (semanas 2-6, ciclo 1) y 9 MUI/día durante 5 días (semanas 1-6; ciclos ≥ 2). Todos los ciclos de tratamientos fueron de nueve semanas de duración con seis semanas de tratamiento y tres semanas sin tratamiento. Se pretendió que la duración del tratamiento continuara durante al menos dos ciclos. Los pacientes con enfermedad progresiva se sacaron del estudio, mientras que los pacientes que respondieron al tratamiento podrían continuar el tratamiento a criterio del investigador. La respuesta tumoral se evaluó cada nueve semanas hasta la progresión de la enfermedad durante hasta dos años. Los pacientes se evaluaron para supervivencia a uno y dos años. La población por intención de tratar (ITT) de ILIAD (n=263 pacientes) recibió al menos una dosis del fármaco en estudio.

Las modificaciones de dosis para toxicidades se hicieron según pautas estipuladas en el protocolo. Los pacientes que experimentaron grado 3 o superior fueron retirados del tratamiento hasta que se resolvieron los síntomas, y tuvieron dosis posteriores reducidas a la mitad. Si fue tolerado, se implementó un aumento de dosis gradual para ajustar de nuevo la dosis especificada del protocolo. La tasa de aumento de dosis y la dosis final se dejaron a criterio del investigador. Según el protocolo, cualquier dosis diana debería ser suficiente para permitir que el paciente recibiera Proleukin® como un paciente ambulatorio, pero suficientemente alta para garantizar la absorción sistémica (en general ésta está en el intervalo de 5-10 MUI/día por administración subcutánea). Las toxicidades que persistieron durante más de dos semanas produjeron la eliminación de ese paciente del estudio.

Se recogieron datos para un total de 270 pacientes. Tres de los 270 pacientes fueron fallos del cribado y 4 se enrolaron, pero nunca fueron dosificados. Los 263 pacientes restantes tomaron al menos una dosis de la medicación del estudio y fueron elegibles para análisis (la población por intención de tratar). Según los registros de dosificación

de los 263 pacientes, 142 pacientes recibieron dos ciclos del fármaco en estudio (la población por protocolo). El sesenta y cinco por ciento de los pacientes por intención de tratar y el 70,4% de los pacientes por protocolo se retiraron debido a una progresión de la enfermedad o recaída.

5 Eficacia

Después de dos ciclos de tratamiento, los pacientes se evaluaron para progresión o respuesta por el investigador (véase la tabla más adelante). Las categorías de respuesta fueron "respuesta completa" (RC), "respuesta parcial" (RP), "enfermedad progresiva" (EP), "enfermedad estable" (EE) e "indeterminado" (ID).

10 Seis de los 263 pacientes por intención de tratar (2,3%) se evaluaron como pacientes que responden completamente al tratamiento por el investigador y 12 (4,6%) como pacientes que responden parcialmente al tratamiento. Cuarenta y ocho pacientes por intención de tratar (18,3%) tuvieron enfermedad estable y 156 (59,3%) tuvieron estado de enfermedad progresiva. Treinta y ocho pacientes por intención de tratar (14,4%) fueron considerados indeterminables y a 3 (1,1%) les faltaron evaluaciones. La tasa de respuesta global (respuesta completa más parcial) fue del 6,8% con un intervalo de confianza (IC) del 95% del 4,1-10,6%.

20 Seis de los 142 pacientes por protocolo (es decir, recibieron dos ciclos del fármaco en estudio) (4,2%) se evaluaron como pacientes que responden completamente al tratamiento por el investigador y 11 (7,7%) como pacientes que responden parcialmente al tratamiento. La tasa de respuesta global (respuesta completa más parcial) fue del 12,0% con un intervalo de confianza del 95% del 7,1 - 18,5%.

Evaluación del investigador de la mejor respuesta

	Intención de tratar (N=263)	Por protocolo (N=142)
Respuesta completa	6 (2.3%)	6 (4.2%)
Respuesta parcial	12 (4.6%)	11 (7.7%)
Enfermedad estables	48 (18.3%)	37 (26.1%)
Enfermedad progresiva	156 (59.3%)	87 (61.3%)
No se puede determinar	38 (14.4%)	0
Perdida	3 (1.1%)	1 (0.7%)
Tasa de respuesta global (95% CI)	6.8 (4.1 -10.6)	12.0 (7.1-18.5)

25 Entre los 263 pacientes por intención de tratar, se produjeron 169 (64,3%) muertes durante el periodo de seguimiento de dos años. Entre los 142 pacientes por protocolo se produjeron 73 (51,4%) muertes. La siguiente tabla resume los resultados del análisis de supervivencia.

30 Supervivencia

	Intent-to-treat (N=263)	Per-protocol (N=142)
Número de muertes	169 (64.3%)	73 (51.4%)
Supervivencia media en años (95% C.I.)	1.08 (0.97,1.27)	1.65 (1.39,2.11)
Tasa de supervivencia un año (95% C.I.)	0.54 (0.48,0.60)	0.74 (0.67,0.81)
Tasa de supervivencia dos años (95% C.I.)	0.32 (0.26,0.38)	0.45 (0.36,0.55)

Subgrupos de función renal

35 Se realizó un análisis de subgrupos de los datos del estudio de ILIAD comparando pacientes con función renal normal (creatinina en suero (SCr) $\leq 1,5$ mg/dl) con pacientes con función renal alterada (SCr $> 1,5$ mg/dl). Una comparación de los subgrupos normales y renalmente insuficientes muestra una frecuencia similar de nefrectomía (73 frente al 70%), PS=0 (28 frente al 23%), PS=1 (59 frente al 60%) y PS=2-3 (13 frente al 17%), respectivamente. Véase la siguiente tabla.

40

	ILIAD (ITT)	ILIAD (SCr≤1.5 mg/dL)	ILIAD (SCr>1.5 mg/dL)
Pacientes evaluables	n=263	n=209	n=53
Nefrectomía, %	72	73	70
PS=0, %	27	28	23
PS=1, %	59	59	60
PS=2-3, %	14	13	17

Comparación de eficacia para pacientes con función renal normal y alterada

Se encontró que los pacientes con función renal normal y alterada tenían desenlaces similares. Las Figuras 1-3 representan gráficas que comparan la eficacia relativa de IL-2 a baja dosis en pacientes con carcinoma de células renales metastásico que tienen función renal normal (creatinina en suero (SCr) ≤ 1,5 mg/dl) y alterada (SCr >1,5 mg/dl) tras la pauta de administración descrita anteriormente. En comparación con pacientes con función renal normal, los pacientes renalmente insuficientes tuvieron incidencias similares o mayores de RP (5,7 frente al 4,3%), TRO (7,6 frente al 6,7%), mediana de SLP (0,34 frente a 0,33 años), SLP-1 año (28 frente al 18%), SLP-2 años (16 frente al 10%) y SG-2 años (39 frente al 31%). RC (1,9 frente al 2,4%). La mediana de la supervivencia (1,0 frente a 1,1 años) y SG-1 año (52 frente al 55%) fueron ligeramente inferiores para el subgrupo renalmente insuficiente. Véase la siguiente tabla para una comparación de la eficacia de tratamiento para los subgrupos renales.

	ILIAD (ITT)	ILIAD (SCr≤1.5 mg/dL)	ILIAD (SCr>1.5 mg/dL)
Pacientes evaluables	n=263	n=209	n=53
CR %	2.3	2.4	1.9
PR %	4.6	4.3	5.7
ORR %	6.8 (4.1-10.6)	6.7 (3.7-11.0)	7.6 (2.1-18.2)
Duración media de la respuesta, años	1.7 (1.1-1.9)	1.5 (1.0-1.7)	NE
Media PFS, años	0.33 (0.31-0.34)	0.33 (0.30-0.34)	0.34 (0.28-0.66)
PFS 1 yr, %	20 (15-25)	18	28
PFS -2 yr, %	11 (7-15)	10	16
Tiempo de supervivencia medio, años	1.1 (1.0-1.3)	1.1 (0.9-1.3)	1.0 (0.9-2.5)
OS-1 yr, %	54 (48-60)	55	52
OS-2 yr, %	32 (26-38)	31	39

Cuando los subgrupos renales se controlaron para nefrectomía previa y escala de rendimiento, SLP y SG permanecieron comparables. Se generaron modelos de regresión logística incondicional monofactorial usando programas de SAS convencionales para estimar cocientes de probabilidades e intervalos de confianza del 95% de Wald 95 para TRO. Para pacientes renalmente insuficientes, la TRO fue numéricamente inferior que para pacientes con función renal normal cuando los subgrupos se controlaron para nefrectomía (cociente de probabilidades = 0,52), PS=0 (cociente de probabilidades = 0,57) y PS=1 (cociente de probabilidades = 0,63). Sin embargo, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas y deberían interpretarse con cuidado debido al pequeño número de pacientes que responden al tratamiento en los subgrupos renales de función normal (n=14) y alterada (n=4). Se usaron modelos de regresión de riesgos proporcionales de Cox para obtener cocientes de riesgos instantáneos e intervalos de confianza del 95% para SLP y SG. La SLP para pacientes renalmente insuficientes fue similar a la de pacientes con función renal normal cuando los subgrupos se controlaron para nefrectomía (cociente de riesgos instantáneos = 0,86), no nefrectomía (cociente de riesgos instantáneos = 1,09), PS=0 (cociente de riesgos instantáneos = 1,15) y PS=1 (cociente de riesgos instantáneos = 0,71). La supervivencia para pacientes renalmente insuficientes también fue similar a la de pacientes con función renal normal cuando los subgrupos se controlaron para nefrectomía (cociente de riesgos instantáneos = 0,92), no nefrectomía (cociente de riesgos instantáneos = 1,03), PS=0 (cociente de riesgos instantáneos = 1,11) y PS=1 (cociente de riesgos instantáneos = 0,82). Véase la siguiente tabla.

Evaluación monofactorial de subgrupos de ILIAD (SCr>1,5 frente a ≤15 mg/dl)

ORR	Ratio Odds	Wald IC 95%	Nº de Pacientes
Nefrectomía	0.52	0.11-2.39	189
Sin nefrectomía	NE	NE	73
PS=0	0.57	0.06-5.02	70
PS=1	0.63	0.07-5.42	155
PFS	Ratio riesgo	IC 95%	Nº de Pacientes
Nefrectomía	0.86	0.58-1.27	189
Sin nefrectomía	1.09	0.61-1.93	73
PS=0	1.15	0.58-2.29	70
PS=1	0.71	0.47-1.07	155
OS	Ratio riesgo	IC 95%	Nº de Pacientes
Nefrectomía	0.92	0.58-1.46	189
Sin nefrectomía	1.03	0.54-1.95	73
PS=0	1.11	0.46-2.68	70
PS=1	0.82	0.51-1.31	155

NE= No estimable

Comparación con controles históricos

5 Una búsqueda bibliográfica identificó ocho publicaciones que usaron grupos de control de placebo o pseudo-placebo en estudios de pacientes con carcinoma de células renales no previamente tratados con inmunoterapia (Pyrhonen y col. (1999) J. Clin. Oncol. 17:2859-2867; Motzer y col. (1999) J. Clin. Oncol. 17:2530-40; Ritchie y col. (1999) Lancet 353:14-17; Kriegmair y col. (1995) Urology 45:758-762; y Jones y col. (1993) Cancer Biother. 8:275-288; Gleave y col. (1998) New Engl. J. Med. 338:1265-1271; Steineck y col. (1990) Acta Oncol. 29:155-162; Osband y col. (1990) Lancet 335:994-998). Los resultados para grupos de control en estos estudios publicados varió enormemente, lo más probablemente debido a diferencias en el tratamiento del control (ninguno, hormonal o quimioterapia), diseño del estudio, criterios de selección de pacientes y tratamiento previo del paciente. Véase la siguiente tabla.

Datos de control histórico

	Ritchie 1999	Pyrhonen 1999	Motzer 1999	Gleave 1998	Kriegmair 1995	Jones 1993	Steineck 1990	Osband 1990
Paciente evaluados	n=168	n=81	n=274	n=90	n=35	n=377	n=30	n=45
Control	MPA	VLB	Quimio u hormonales	placebo	MPA	Quimio	MPA	CIM
PS=0	UK	UK	0	36	UK	37	UK	54
PS=1	UK	UK	71	55	medio	63	UK	UK
PS>2	UK	UK	29	9	UK	0	UK	UK
Nefrectomía %	57	88	65	78	UK	79	90	75
Edad media	55-65	62 [39-77]	58 [18-82]	62	66 [47-79]	58 [22-82]	62 [40-77]	63 (34-84)
CR %	0	1.2	UK	3:3	0	0.80	3.3 (0-17)	0

PR %	7.1	1.2	UK	3.3	0	4.2	0	4.8
ORR%	7.1	2.4	UK	6.6 (2.7-14.5)	0	5.0 (3-7)	3.3 (0-17)	4.8
Media PFS, años	0.25	0.17	UK	0.16 (0.14-0.32)	UK	UK	UK	UK
PFS 1 año, %	10	4.1	UK	4.0	UK	UK	UK	UK
PFS-2 años, %	1.1	4.1	UK	NE	UK	UK	UK	UK
Tiempo medio de supervivencia, años	0.54	0.73	0.53 (0.43-0.63)	1.3 (0.5-1.5)	0.83	0.63	0.58	0.73
OS-1 año, %	31	38	UK	54	30	32	26	45
OS-2 años, %	12	19	UK	9	20	11	16	NE
IC del 95% se da entre paréntesis, los rangos se dan entre corchetes UK = Desconocido, NE = No estimable MPA = medroxiprogesterona, VLB = vinblastina, CIM = cimetidina								

Los desenlaces para el subgrupo de función renal normal, subgrupo de función renal alterada y población ITT de ILIAD fueron más favorables que la mayoría de los desenlaces medidos en los grupos de control históricos. El porcentaje de pacientes con PS = 0, PS = 1 y nefrectomía previa para los subgrupos renales de ILIAD y población ITT estuvo próximo a la mediana del intervalo para los grupos de control históricos, sugiriendo que la población de pacientes de ILIAD es comparable a la de los controles históricos (véase la Figura 3). A diferencia, la población ITT de ILIAD y los subgrupos renales fueron numéricamente más favorables que los controles históricos para una mayoría (43/50, 86%) de los desenlaces de eficacia (véase la Figura 4). Los resultados para los subgrupos renales y población por ITT fueron los mismos o numéricamente inferiores en comparación con 7/50 (14%) de los desenlaces de eficacia de controles históricos: RC en el estudio de Steineck (1990); RP en el estudio de Osband (1990); RP y TRO en el estudio de Ritchie (1999); y RC, mediana de la supervivencia y SG-1 año en el estudio de Gleave (1998). Cuando se compararon por criterios de valoración, el estudio de ILIAD fue más favorable que los controles históricos para una mayoría de respuesta (16/21, 76%), SLP (8/8, 100%) y desenlaces de supervivencia (19/21, 90%).

Además, los pacientes de ILIAD estratificados por grupos de riesgo tuvieron una mayor tasa de supervivencia que los controles históricos. La tasa de supervivencia de pacientes tratados con IL-2 a baja dosis se comparó con la de un grupo de control histórico (descrito en Jones y col., arriba) de pacientes tratados con quimioterapia en lugar de IL-2. Los pacientes se subdividieron en grupos de riesgo según el sistema de Jones de estratificación de factores de riesgo, que se basa en una combinación de factores de riesgo identificados: PS de ECOG > 1, tiempo desde el diagnóstico hasta el tratamiento < 2 años, y metástasis en más de un sitio. Los pacientes se subdividieron en los siguientes grupos de riesgo de Jones: riesgo asumible (0-1 factores de riesgo), riesgo moderado (2 factores de riesgo) y mal pronóstico (los 3 factores de riesgo). La Figura 5 muestra representaciones separadas del porcentaje de sujetos supervivientes frente al tiempo en años para cada uno de los grupos de riesgo. Los pacientes tratados con IL-2 a baja dosis según la pauta descrita en el Ejemplo 3 tuvieron una tasa de supervivencia numéricamente mayor en los tres grupos de riesgo de Jones en comparación con controles históricos. Sin embargo, la diferencia en la supervivencia entre los pacientes de ILIAD y los controles históricos parece reducirse a medida que los grupos de riesgo se vuelven menos favorables. Véase la siguiente tabla.

Grupo de riesgo	ILIAD (Bueno)	Control (Bueno)	ILIAD (Moderado)	Control (Moderado)	ILIAD (Pobre)	Control (Pobre)
Pacientes evaluados	n=70	n=118	n=125	n=140	n=63	n=94
Tiempo medio de supervivencia, años	2.0 (1.3-2.2)	0.96	1.1 (0.93-1.5)	0.55	0.61 (0.46-0.80)	0.43
OS-1 año, %	71 (60-82)	46	55 (46-64)	27	33 (21-45)	14
OS-2 años, %	47 (34-61)	17	32 (22-41)	10	17 (7-28)	8
IC del 95% se da entre paréntesis						

Toxicidad

5 Se determinó que los acontecimientos adversos estaban “no relacionados”, “posiblemente relacionados” o “probablemente relacionados” con el tratamiento en estudio por el investigador. El efecto adverso que se produjo más frecuentemente fue fatiga (41,1% de los pacientes), seguido de escalofríos (36,9%), náuseas (36,5%), pirexia (32,7%), vómitos, sin especificar (22,1%) y anorexia (20,9%). Se observaron los siguientes acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento en al menos el 10% de los pacientes (véase la siguiente tabla):

	Intención de tratar (N=263)
Término preferido	Pacientes (%)
Fatiga	108 (41.1)
Escalofríos	97 (36.9)
Náuseas	96 (36.5)
Pirexia	86 (32.7)
Vómitos , sin especificar	58 (22.1)
Anorexia	55 (20.9)
Diarrea, sin especificar	49 (18.6)
Reacción en el lugar de la inyección	48 (18.3)
Dermatitis sin especificar	41 (15.6)
Mialgia	28 (10.6)

10 La terapia con Proleukin® a baja dosis es menos nefrotóxica que Proleukin® a alta dosis. Se ha mostrado que la terapia con Proleukin® a alta dosis produce toxicidad renal significativa, como se mide por la SCr pico media > 4 mg/dl en los primeros ciclos de tratamiento y > 6 mg/dl durante el segundo ciclo de terapia para pacientes con elevada SCr en el nivel inicial (Belldegrun y col. 1987). Se observó un aumento más pequeño, pero todavía espectacular, en la SCr pico media (hasta 3 mg/dl) para pacientes con SCr normal en el nivel inicial. Los niveles de
15 SCr volvieron al nivel inicial en el plazo de 30 días para el 60% de los pacientes con función renal alterada en comparación con el 98% de pacientes con función renal normal. Estos resultados sugieren que Proleukin® a alta dosis produce mayor nefrotoxicidad en pacientes renalmente insuficientes que en pacientes con función renal normal. A diferencia, Proleukin® a baja dosis solo produjo pequeños aumentos en SCr durante el tratamiento (generalmente < 2 mg/dl), que fueron comparables entre los subgrupos renales de función normal y alterada. Las elevaciones en SCr > 3 mg/dl fueron raras para cualquier subgrupo. No cabría esperar que los pacientes con desplazamientos de SCr en este intervalo (< 3 mg/dl) tuvieran síntomas graves o requisitos de tratamiento específicos.

25 La frecuencia y grado de acontecimientos adversos (AE) fueron generalmente comparables entre subgrupos de pacientes con función renal normal y alterada. En comparación con el subgrupo normal, el subgrupo renalmente insuficiente tuvo un número ligeramente menor de acontecimientos adversos graves totales (AEG) (26 frente al 30%), AE (77 frente al 89%) y AE relacionados con el fármaco (76 frente al 81%). El número de AE que llevaron a la interrupción fue ligeramente mayor en el subgrupo renalmente insuficiente (30 frente al 25%). En tanto los subgrupos normales como renalmente insuficientes, el mayor porcentaje de AE fue grado 3 (42 frente al 34%), seguido de
30 grado 2 (33 frente al 23%), grado 4 (9 frente al 13), grado 1 (4 frente al 8%) y grado 5 (1 frente al 0%), respectivamente.

Los acontecimientos adversos más comunes (informados en >10% de los pacientes en cualquier subgrupo) fueron generalmente comparables entre los subgrupos normales y renalmente insuficientes e incluyeron fatiga (43 frente al 45%), escalofríos (38 frente al 36%), pirexia (39 frente al 23%), reacción en el inyección sitio (18 frente al 21%), náuseas (39 frente al 36%), vómitos (25 frente al 19%), diarrea (20 frente al 19%), dermatitis, sin especificar (18 frente al 11%), anorexia (23 frente al 19%), tos (20 frente al 9%), disnea, sin especificar (13 frente al 26%), insomnio (9 frente al 17%), artralgia (12 frente al 13%), mialgia (11 frente al 9%), edema de las extremidades inferiores (8 frente al 17%), peso reducido (11 frente al 4%) e hipotensión, sin especificar (6 frente al 11%), respectivamente.

40 La nefrotoxicidad de Proleukin® a baja dosis fue similar entre subgrupos renales. La nefrotoxicidad de la terapia con Proleukin® a baja dosis se evaluó comparando niveles de SCr durante cada ciclo de tratamiento con mediciones del nivel inicial. Aunque los niveles de SCr pico aumentaron ligeramente durante el tratamiento para un gran número de pacientes, SCr pico > 2,0 mg/dl se observó en solo cinco pacientes en el subgrupo renalmente insuficiente y ocho
45 pacientes en el subgrupo de función renal normal. SCr pico > 3,0 mg/dl fue poco común y se observó en solo un

paciente en el subgrupo renalmente insuficiente y dos pacientes en el subgrupo de función renal normal.

Conclusión

5 La interleucina-2 a baja dosis parece ser segura y eficaz para tratar pacientes renalmente insuficientes con carcinoma de células renales metastásico, que no son elegibles para terapia con IL-2 a alta dosis. Los resultados del estudio clínico de fase IV indican que Proleukin® a baja dosis produce tasa de respuesta, supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG) similares en tanto pacientes normales como renalmente insuficientes. Los desenlaces de eficacia para pacientes normales y renalmente insuficientes tratados con Proleukin® a baja dosis fueron generalmente superiores a los informados para grupos de control históricos. La nefrotoxicidad con Proleukin® a baja dosis fue similar entre los subgrupos renales, y espectacularmente menor a la observada con Proleukin® a alta dosis en pacientes renalmente insuficientes.

Ejemplo 4

15 **Tratamiento de carcinoma de células renales metastásico por administración de IL-2 a baja dosis**

Se administra una formulación de IL-2 a pacientes con un diagnóstico histológico de carcinoma de células renales metastásico. La concentración de IL-2 en la formulación es aproximadamente 22 MUI. La formulación de IL-2 se administra por inyección subcutánea. El tratamiento comprende dos ciclos de 9 semanas. El primer ciclo comprende seis semanas de tratamiento con IL-2 a baja dosis a 9-18 MUI, una vez al día durante cinco días a la semana (qd x 5d), seguido de un periodo de descanso de tres semanas. El segundo ciclo comprende seis semanas de tratamiento con IL-2 a baja dosis a 9 MUI, una vez al día durante cinco días a la semana (qd x 5d), seguido de un periodo de descanso de tres semanas. Los ciclos de tratamiento se repiten en pacientes que responden al tratamiento.

25 Aunque las realizaciones preferidas de la invención se han ilustrado y descrito, se apreciará que pueden hacerse diversos cambios en su interior sin apartarse del alcance de la invención.

LISTADO DE SECUENCIAS

30 <110> Chiron Corporation

<120> Procedimientos para tratar carcinoma de células renales

35 <130> PP023880.0003

<150> 60/647.496

<151> 27/01/2005

40 <160> 1

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

45 <211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

ES 2 432 141 T3

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile
 115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr
 130

REIVINDICACIONES

- 5 1. IL-2 para su uso en el tratamiento de un paciente humano renalmente insuficiente que tiene carcinoma de células renales, en el que
- a) una dosis de 9-18 MUI de IL-2 por día se administra subcutáneamente, en 1-3 dosis al día, durante 3-6 días a la semana, repetida durante 1-24 semanas; y
 - b) no se administra IL-2 durante 1-4 semanas.
- 10 2. IL-2 para su uso en el tratamiento de un paciente humano renalmente insuficiente que tiene carcinoma de células renales, en el que:
- a) una dosis de 9-18 MUI de IL-2 se administra subcutáneamente por día, en 1-3 dosis al día, durante 3-6 días a la semana, repetida durante 1-24 semanas;
 - 15 b) no se administra IL-2 durante 1-4 semanas;
 - c) una dosis de 9 MUI de IL-2 se administra subcutáneamente por día, en 1-3 dosis al día, durante 3-6 días a la semana, repetida durante 1-24 semanas; y
 - d) no se administra IL-2 durante 1-4 semanas.
- 20 3. IL-2 para su uso según la reivindicación 2, en el que:
- a) primero, 2 una dosis de 18 MUI de IL-2 se administra subcutáneamente por día durante 5 días durante una semana;
 - 25 b) segundo, una dosis de 9 MUI de IL-2 se administra subcutáneamente por día durante 2 días seguido de administración subcutánea de una dosis de 18 MUI de IL-2 por día durante 3 días durante cada semana, repetida durante 5 semanas;
 - c) tercero, no se administra IL-2 durante 3 semanas;
 - d) cuarto, una dosis de 9 MUI de IL-2 se administra subcutáneamente por día durante 5 días de cada semana, repetida durante 6 semanas; y
 - 30 e) quinto, no se administra IL-2 durante 3 semanas.
- 35 4. IL-2 para su uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que dicha IL-2 es IL-2 recombinantemente producida que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 70% de identidad de secuencias con la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana.
5. IL-2 para su uso según la reivindicación 4, en el que dicha IL-2 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80% de identidad de secuencias con la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana.
- 40 6. IL-2 para su uso según la reivindicación 5, en el que dicha IL-2 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% de identidad de secuencias con la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana.
7. IL-2 para su uso según la reivindicación 6, en el que dicha IL-2 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 95% de identidad de secuencias con la secuencia de aminoácidos de IL-2 humana.
- 45 8. IL-2 para su uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que dicha IL-2 es una muteína de IL-2.
9. IL-2 para su uso según la reivindicación 8, en el que dicha IL-2 es des-alanil-1, serina-125-interleucina-2 humana (aldesleucina).
- 50 10. IL-2 para su uso según la reivindicación 8, en el que dicha IL-2 está seleccionada del grupo que consiste en Ala₁₀₄ Ser₁₂₅ IL-2; des-Ala₁ des-Pro₂ des-Thr₃ des-Ser₄ Ala₁₀₄ Ser₁₂₅ IL-2; y des-Ala₁ des-Pro₂ des-Thr₃ des-Ser₄ des-Ser₅ des-Ser₆ IL-2.
- 55 11. IL-2 para su uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que dicho carcinoma de células renales es metastásico.
12. IL-2 para su uso según la reivindicación 2, en el que se administran múltiples ciclos de tratamiento a dicho sujeto durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar al menos una respuesta tumoral parcial.
- 60 13. IL-2 para su uso según la reivindicación 2, que comprende además múltiples ciclos de un tratamiento que comprende:
- 65 a) una dosis de 9 MUI de IL-2 se administra subcutáneamente por día, en 1-3 dosis al día, durante 3-6 días a la semana, repetida durante 1-24 semanas; y
 - b) no se administra IL-2 durante 1-4 semanas;

administrada a dicho sujeto durante un periodo de tiempo suficiente para efectuar al menos una respuesta tumoral parcial.

5 14. IL-2 para su uso como se reivindica en cualquier reivindicación 12 ó 13, en el que el periodo de tiempo es al menos 6 meses.

15. IL-2 para su uso como se reivindica en cualquier reivindicación 12 ó 13, en el que el periodo de tiempo es al menos 12 meses.

10 16. IL-2 para su uso como se reivindica en cualquier reivindicación 12 ó 13, en el que se efectúa una respuesta tumoral completa.

17. IL-2 para su uso según la reivindicación 2, en el que dicho paciente es intolerante al tratamiento con IL-2 a alta dosis.

15 18. Uso de IL-2 en la fabricación de un medicamento para tratar un paciente humano renalmente insuficiente que tiene carcinoma de células renales según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

Resultados de la eficacia de los grupos renales similares

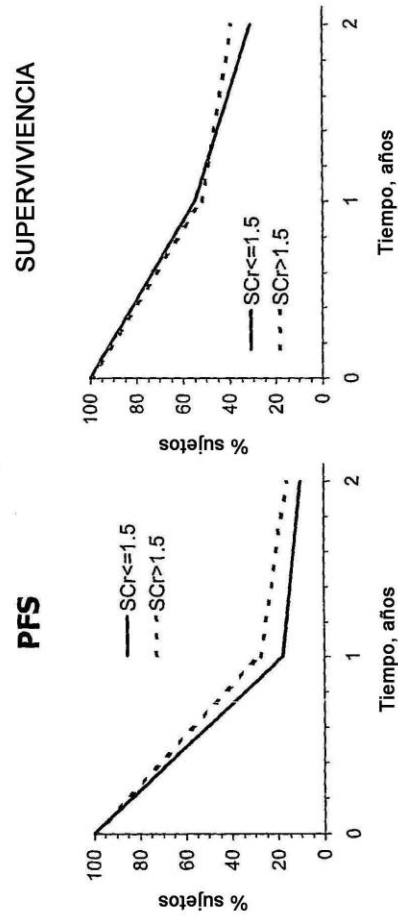


Figura 1

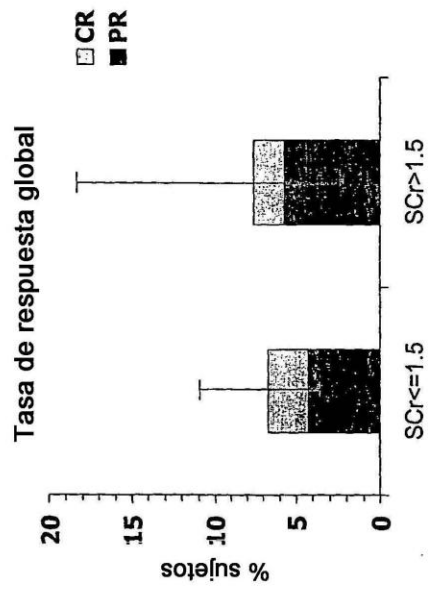


FIGURA 2

Características de los grupos renales ILIAD
similares a los controles históricos

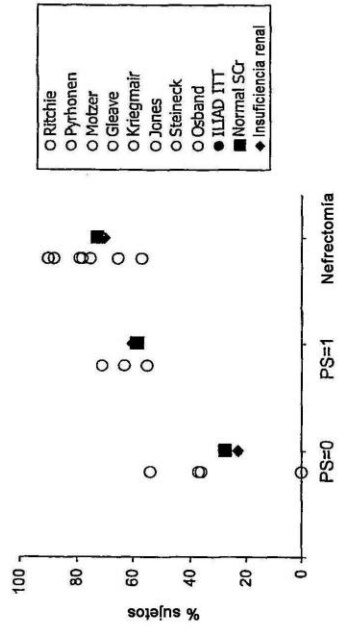


FIGURA 3

Resultados de subgrupos renales ILIAD mas favorables que los controles historicos

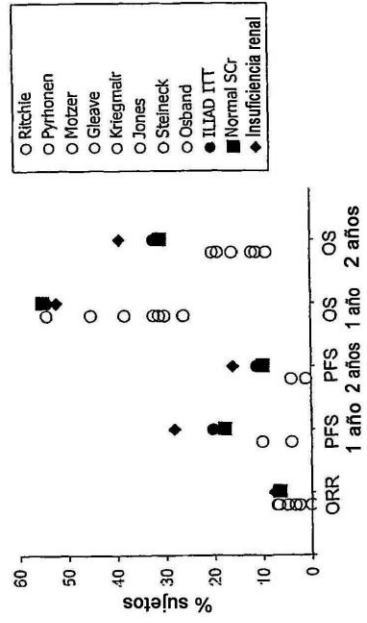


FIGURA 4

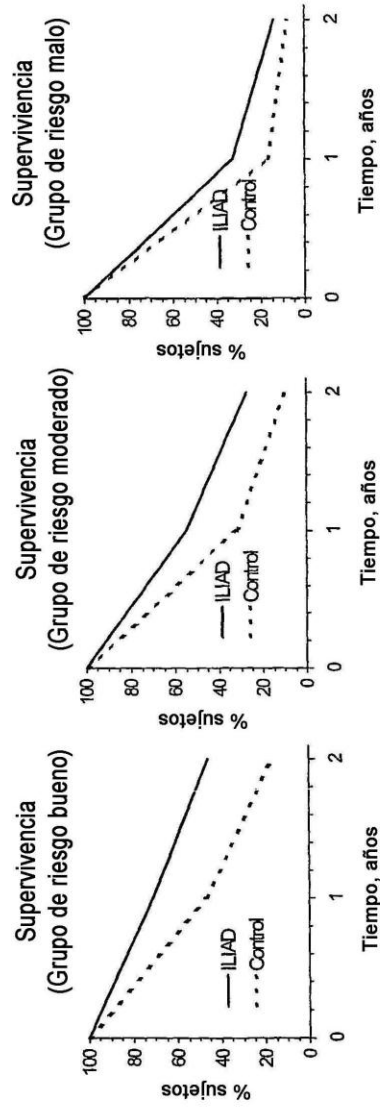


FIGURA 5