

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 996 275**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/00** (2006.01)

**A61K 38/17** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.01.2018** **PCT/IB2018/050061**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.07.2018** **WO18127828**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.01.2018** **E 18701797 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2024** **EP 3565585**

54 Título: **Método terapéutico que usa protocolo de aumento de dosis para péptidos tolerógenos**

30 Prioridad:

**04.01.2017 GB 201700111**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.02.2025**

73 Titular/es:

**WORG PHARMACEUTICALS (ZHEJIANG) CO., LTD. (100.00%)**  
**Room 215, Building 2198 Bandaozhonglu**  
**RoadDipu StreetAnji County**  
**Huzhou, Zhejiang, CN**

72 Inventor/es:

**WRAITH, DAVID y**  
**MARTIN, KEITH**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 996 275 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Método terapéutico que usa protocolo de aumento de dosis para péptidos tolerógenos

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a un método terapéutico que usa un péptido tolerógeno. En particular, la invención se refiere a una pauta de dosificación para un péptido tolerógeno. El método terapéutico puede usarse para tratar o prevenir afecciones asociadas con respuestas inmunitarias aberrantes, de hipersensibilidad o patológicas contra proteínas endógenas o exógenas que dan como resultado una pérdida de tolerancia inmunitaria.

**Antecedentes**

- 10 El sistema inmunitario es un sistema dentro de un organismo que los protege contra enfermedades. Para funcionar adecuadamente, un sistema inmunitario debe detectar una amplia variedad de patógenos, desde virus hasta gusanos parásitos, y distinguirlos del propio tejido sano del organismo.

- 15 Sin embargo, aunque puede provocarse una respuesta inmunológica contra antígenos exógenos, no es deseable que se provoque una respuesta inmunitaria a partir del propio tejido "propio" del organismo. El fenómeno de "tolerancia inmunitaria" o "tolerancia inmunológica" ha evolucionado para prevenir respuestas inmunitarias aberrantes o patológicas.

- 20 La tolerancia inmunitaria describe un estado de falta de respuesta del sistema inmunitario a sustancias o tejidos que tienen la capacidad de provocar una respuesta inmunitaria. La terminología "tolerancia inmunitaria" abarca una gama de mecanismos fisiológicos mediante los que el cuerpo reduce o elimina una respuesta inmunitaria contra agentes particulares. Se usa para describir el fenómeno subyacente a la discriminación de lo propio de lo no propio, la supresión de las respuestas alérgicas, permitir infección crónica en lugar de rechazo y eliminación, y evitar el ataque de fetos por el sistema inmunitario materno.

- 25 La tolerancia natural o "autotolerancia" es el fracaso en atacar las propias proteínas del cuerpo y otros antígenos. Si el sistema inmunitario responde a "lo propio", puede producirse una enfermedad autoinmunitaria. Por tanto, la tolerancia inmunitaria puede funcionar mal y hay situaciones en que puede producirse tolerancia inmunitaria aberrante. Por ejemplo, en afecciones autoinmunitarias tales como lupus eritematoso sistémico (SLE), el cuerpo no discrimina correctamente entre autoantígenos y antígenos no propios, es decir, hay tolerancia inmunitaria incorrecta o aberrante, en el sentido de que el individuo carece de tolerancia inmunitaria a sus propios autoantígenos.

- 30 La tolerancia inducida es tolerancia a antígenos externos que se ha creado manipulando deliberadamente el sistema inmunitario. Es importante, por ejemplo, proteger de reacciones alérgicas desagradables o peligrosas a cosas tales como alimentos (por ejemplo, cacahuetes), picaduras de insectos y polen de gramíneas (fiebre del heno).

Además, la tolerancia inducida es importante para posibilitar que los órganos trasplantados (por ejemplo, riñón, corazón, hígado) sobrevivan en su nuevo hospedador; es decir, para evitar el rechazo del injerto.

La tolerancia inmunológica no es simplemente un fracaso en reconocer un antígeno; es una respuesta activa a un epítipo particular y es exactamente tan específica como una respuesta inmunitaria.

- 35 Por tanto, cuando la tolerancia inmunitaria no funciona correctamente, esto puede tener consecuencias patológicas.

En este sentido, se ha demostrado que es posible inducir tolerancia inmunológica hacia epítomos peptídicos particulares mediante la administración de epítomos peptídicos en forma soluble. En una respuesta inmune adaptativa normal, los linfocitos T reconocen epítomos internos de un antígeno proteínico. Las células presentadoras de antígeno (APC) captan antígenos proteínicos y los degradan en fragmentos peptídicos cortos.

- 40 Un péptido puede unirse a una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I o II dentro de la célula y transportarse a la superficie celular. Cuando se presenta en la superficie celular junto con una molécula de MHC, el péptido puede reconocerse por una célula T (mediante el receptor de células T (TCR)), en cuyo caso el péptido es un epítipo de células T. Dichos epítomos en forma peptídica pueden usarse para inducir tolerancia inmunológica.

- 45 De hecho, la administración de antígenos peptídicos solubles se ha demostrado como un medio eficaz de inhibición de enfermedades en la encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE - un modelo para la esclerosis múltiple (MS)) (Metzler y Wraith (1993) Int. Immunol. 5: 1159-1165; Liu y Wraith (1995) Int. Immunol. 7: 1255-1263; Anderton y Wraith (1998) Eur. J. Immunol. 28:1251-1261); y modelos experimentales de artritis, diabetes y uveorretinitis (revisado en Anderton y Wraith (1998) como anteriormente). Esto también se ha demostrado como un medio de tratamiento de una enfermedad en curso en EAE (Anderton y Wraith (1998) como anteriormente).

- 50 El uso de péptidos tolerógenos para tratar o prevenir enfermedades ha atraído una considerable atención. Una razón para esto es que se ha demostrado que determinados epítomos tolerógenos pueden regular por disminución las respuestas de las células T para antígenos distintos dentro del mismo tejido. Este fenómeno, conocido como "supresión espectadora" significa que debe ser posible inducir tolerancia a más de un epítipo (preferiblemente todos

los epítomos) dentro de un antígeno dado, y a más de un antígeno para una enfermedad dada, usando un péptido tolerógeno particular (Anderton y Wraith (1998) como anteriormente). Esto evita la necesidad de identificar todos los antígenos patógenos dentro de una enfermedad particular.

- 5 Los péptidos también son una opción favorable para terapia debido a su coste relativamente bajo y al hecho de que pueden producirse análogos peptídicos con propiedades inmunológicas alteradas. Por tanto, los péptidos pueden modificarse para alterar sus interacciones con MHC o TCR.

Streeter *et al.* (Streeter *et al.* 2015 Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation, vol. 2, n.º 2, e93) analizó la eficacia de ATX-MS-1467 en un modelo preclínico relevante y evaluó su seguridad para el tratamiento de pacientes con esclerosis múltiple secundaria progresiva (SPMS).

- 10 El documento ES2370957T3 se refiere a una composición que comprende los siguientes péptidos proteínicos básicos de mielina: MBP 30-44; MBP 83-99; MBP 131-145; y MBP 140-154. La composición puede usarse para tratar una enfermedad, en particular esclerosis múltiple y/o neuritis óptica y la invención también se refiere a dichos usos y métodos.

- 15 El documento WO03/064464A1 proporcionó un péptido que puede unirse a una molécula de MHC de clase I o II sin procesamiento adicional (es decir, un apítopo) que comprende una parte de la región (131-158) de la proteína básica de mielina.

El documento AU2006203165A1 describe un método para seleccionar un péptido tolerógeno seleccionando un péptido que puede unirse a una molécula de MHC de clase I o II sin procesamiento adicional.

- 20 El documento WO02/16410A2 proporciona un método para seleccionar un péptido tolerógeno seleccionando un péptido que puede unirse a una molécula de MHC de clase I o II sin procesamiento adicional.

### Compendio de la invención

- 25 La presente invención se refiere a un pauta de dosificación particular para un péptido tolerógeno o combinación de péptidos tolerógenos, que puede usarse en el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección asociada con hipersensibilidad aberrante o respuestas inmunitarias patológicas contra proteínas endógenas o exógenas, que da como resultado una pérdida de tolerancia inmunitaria, cuando se administra en las dosis específicas y en los momentos específicos descritos en la presente memoria.

- 30 Los autores de la presente invención encontraron sorprendentemente que un protocolo de aumento de dosis más lento particular mostró mayor eficacia que un protocolo de aumento de dosis más corto/más rápido. Como se analiza en los presentes ejemplos, un protocolo de aumento de dosis más lento, que implica cuatro administraciones durante un periodo de ocho semanas antes de que se administre la dosis más alta dio lugar a una mayor eficacia (reducción total de un 78 % en el número de nuevas lesiones) que un protocolo de aumento de dosis más corto, que implica dos administraciones durante un periodo de cuatro semanas antes de que se administre la dosis más alta (reducción total de un 54 % en el número de nuevas lesiones).

- 35 Además, los autores de la invención encontraron sorprendentemente que prolongar la administración de la dosis más alta da lugar a una supresión prolongada mejorada de nuevas lesiones después de la dosis final, es decir, la eficacia se prolonga después de que se administre la dosis final.

La invención implica, por tanto, una combinación del protocolo de aumento de dosis más largo en combinación con la administración prolongada de la dosis más alta.

- 40 La presente invención proporciona, por lo tanto, un péptido tolerógeno para su uso en el tratamiento o prevención en un sujeto de una afección asociada con tolerancia inmunitaria aberrante o patológica, en donde

(a) la afección es esclerosis múltiple o neuritis óptica, y el péptido tolerógeno se selecciona de los péptidos de proteína básica de mielina (MBP) MBP 30-44 (SEQ ID NO: 1), MBP 83-99 (SEQ ID NO: 2), MBP 131-145 (SEQ ID NO: 3) y MBP 140-154 (SEQ ID NO: 4); o

- 45 (b) la afección es enfermedad de Graves, y el péptido tolerógeno se selecciona de los péptidos de receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSHR), RNB-5D-K1 (SEQ ID NO: 5) y RNB-9B (SEQ ID NO: 6); y

y en donde el péptido tolerógeno se administra en las siguientes dosis:

Día 1: una primera dosis de aproximadamente 15 a aproximadamente 40 µg;

Día 14 ± 7 días: una segunda dosis de aproximadamente 35-65 µg;

Día 28 ± 7 días: una tercera dosis de aproximadamente 80-120 µg;

- 50 Día 42 ± 7 días: una cuarta dosis de aproximadamente 300-500 µg;

Día 56  $\pm$  7 días: una quinta dosis de aproximadamente 300-1800  $\mu$ g;

Día 70  $\pm$  7 días: una sexta dosis de aproximadamente 300-1800  $\mu$ g;

Día 84  $\pm$  7 días: una séptima dosis de aproximadamente 300-1800  $\mu$ g;

Día 98  $\pm$  7 días: una octava dosis de aproximadamente 300-1800  $\mu$ g;

5      Día 112  $\pm$  7 días: una novena dosis de aproximadamente 300-1800  $\mu$ g; y

Día 126  $\pm$  7 días: una décima dosis de aproximadamente 300-1800  $\mu$ g.

En un aspecto de la invención como se describe en la presente memoria, de la quinta a la décima dosis pueden ser de aproximadamente 600-1500  $\mu$ g.

10      La referencia a " $\pm$  7 días" pretende referirse al día establecido (es decir, el día establecido después de la primera administración del péptido, que se toma como día 1) en donde la administración puede producirse hasta e incluyendo siete días antes, o hasta e incluyendo siete días después, del día establecido. Por tanto, la administración puede tener lugar 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 día antes, o 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días después del día establecido.

15      En un aspecto de la invención descrita en la presente memoria, la referencia a " $\pm$  7 días" es preferiblemente  $\pm$  3 días. Es decir, la administración puede tener lugar hasta e incluyendo tres días antes, o hasta e incluyendo tres días después del día establecido. Por tanto, la administración puede tener lugar 3, 2 o 1 día antes, o 1, 2 o 3 días después del día establecido.

En una realización preferida de la invención, el péptido tolerógeno se administra en las siguientes dosis:

Día 1: una primera dosis de aproximadamente 25  $\mu$ g;

Día 14: una segunda dosis de aproximadamente 50  $\mu$ g;

20      Día 28: una tercera dosis de aproximadamente 100  $\mu$ g;

Día 42: una cuarta dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g;

Día 56: una quinta dosis de aproximadamente 800  $\mu$ g;

Día 70: una sexta dosis de aproximadamente 800  $\mu$ g;

Día 84: una séptima dosis de aproximadamente 800  $\mu$ g;

25      Día 98: una octava dosis de aproximadamente 800  $\mu$ g;

Día 112: una novena dosis de aproximadamente 800  $\mu$ g; y

Día 126: una décima dosis de aproximadamente 800  $\mu$ g.

En un aspecto, de la quinta a la décima dosis pueden ser alternativamente de aproximadamente 400  $\mu$ g.

En un aspecto alternativo, de la quinta a la décima dosis pueden ser alternativamente de aproximadamente 1600  $\mu$ g.

30      Por tanto, en una realización de la invención, el péptido tolerógeno se administra en las siguientes dosis:

Día 1: una primera dosis de aproximadamente 25  $\mu$ g;

Día 14: una segunda dosis de aproximadamente 50  $\mu$ g;

Día 28: una tercera dosis de aproximadamente 100  $\mu$ g;

Día 42: una cuarta dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g;

35      Día 56: una quinta dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g;

Día 70: una sexta dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g;

Día 84: una séptima dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g;

Día 98: una octava dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g;

Día 112: una novena dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g; y

40      Día 126: una décima dosis de aproximadamente 400  $\mu$ g.

En otra realización de la invención, el péptido tolerógeno se administra en las siguientes dosis:

Día 1: una primera dosis de aproximadamente 25 µg;

Día 14: una segunda dosis de aproximadamente 50 µg;

Día 28: una tercera dosis de aproximadamente 100 µg;

5      Día 42: una cuarta dosis de aproximadamente 400 µg;

Día 56: una quinta dosis de aproximadamente 1600 µg;

Día 70: una sexta dosis de aproximadamente 1600 µg;

Día 84: una séptima dosis de aproximadamente 1600 µg;

Día 98: una octava dosis de aproximadamente 1600 µg;

10      Día 112: una novena dosis de aproximadamente 1600 µg; y

Día 126: una décima dosis de aproximadamente 1600 µg.

Cualquiera de las enseñanzas en la presente memoria con respecto al "método" de la invención es igualmente aplicable a los "usos" abarcados por la invención.

15      En un aspecto adicional de la invención como se describe en la presente memoria, una undécima dosis de aproximadamente 300-1800 µg, preferiblemente aproximadamente 600-1500 µg, preferiblemente aproximadamente 1200 µg, más preferiblemente aproximadamente 400, 800 o 1600 µg, se administra el día  $140 \pm 7$  días, preferiblemente el día  $140 \pm 3$  días, más preferiblemente el día 140. En un aspecto preferido, la dosis es de aproximadamente 800 µg.

20      En un aspecto incluso más preferido, una duodécima dosis de aproximadamente 300-1800 µg, preferiblemente aproximadamente 600-1500 µg, preferiblemente aproximadamente 1200 µg, más preferiblemente aproximadamente 400, 800 o 1600 µg, se administra el día  $154 \pm 7$  días, preferiblemente el día  $154 \pm 3$  días, más preferiblemente el día 154. En un aspecto preferido, la dosis es de aproximadamente 800 µg.

25      En un aspecto preferido adicional, una decimotercera dosis de aproximadamente 300-1800 µg, preferiblemente aproximadamente 600-1500 µg, preferiblemente aproximadamente 1200 µg, más preferiblemente aproximadamente 400, 800 o 1600 µg, se administra el día  $168 \pm 7$  días, preferiblemente el día  $168 \pm 3$  días, más preferiblemente el día 168. En un aspecto preferido, la dosis es de aproximadamente 800 µg.

30      En un aspecto preferido adicional, una decimocuarta dosis de aproximadamente 300-1800 µg, preferiblemente aproximadamente 600-1500 µg, preferiblemente aproximadamente 1200 µg, más preferiblemente aproximadamente 400, 800 o 1600 µg, se administra el día  $182 \pm 7$  días, preferiblemente el día  $182 \pm 3$  días, más preferiblemente el día 182. En un aspecto preferido, la dosis es de aproximadamente 800 µg.

35      Pueden administrarse dosis adicionales como se describe anteriormente según se requiera durante un periodo de, por ejemplo, un mes a veinte años, por ejemplo, durante un periodo de un mes, dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, diez meses, once meses, un año, dos años, tres años, cuatro años, cinco años, seis años, siete años, ocho años, nueve años, diez años, once años, doce años, trece años, catorce años, quince años, dieciséis años, diecisiete años, dieciocho años, diecinueve años o veinte años.

### 35      **Breve descripción de las figuras**

La figura 1 muestra el número de nuevas lesiones de Gd medidas por MRI significativamente reducidas por tratamiento con ATX-MS-1467 en un ensayo clínico de fase IB (n = 21). También se muestra el protocolo de dosificación para ATX-MS-1467 (µg).

40      La figura 2 muestra el efecto de ATX-MS-1467 sobre nuevas lesiones potenciadoras de Gd medidas por MRI en un ensayo clínico de fase IIA (n = 17). También se muestra el protocolo de dosificación para ATX-MS-1467 (µg). Las medias y los ETM se volvieron a transformar. Los ETM se obtuvieron del modelo estadístico. El análisis se realizó mediante un modelo mixto lineal generalizado con la visita como factor fijo, el paciente como sujeto. Los valores de p son ensayos de Wald sin ajustar después de ajustar este modelo. \*p < 0,05, \*\*p < 0,01, \*\*\*p < 0,001.

### **Descripción detallada de la invención**

45      En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un péptido tolerógeno para su uso en el tratamiento o prevención en un sujeto de una afección asociada con tolerancia inmunitaria aberrante o patológica, en donde

(a) la afección es esclerosis múltiple o neuritis óptica, y el péptido tolerógeno se selecciona de los péptidos de proteína básica de mielina (MBP) MBP 30-44 (SEQ ID NO: 1), MBP 83-99 (SEQ ID NO: 2), MBP 131-145 (SEQ ID NO: 3) y MBP 140-154 (SEQ ID NO: 4); o

5 (b) la afección es la enfermedad de Graves, y el péptido tolerógeno se selecciona de los péptidos de receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSHR), RNB-5D-K1 (SEQ ID NO: 5) y RNB-9B (SEQ ID NO: 6); y

y en donde el péptido tolerógeno se administra en las siguientes dosis:

Día 1: una primera dosis de aproximadamente 15 a aproximadamente 40 µg;

Día 14 ± 7 días: una segunda dosis de aproximadamente 35-65 µg;

Día 28 ± 7 días: una tercera dosis de aproximadamente 80-120 µg;

10 Día 42 ± 7 días: una cuarta dosis de aproximadamente 300-500 µg;

Día 56 ± 7 días: una quinta dosis de aproximadamente 300-1800 µg;

Día 70 ± 7 días: una sexta dosis de aproximadamente 300-1800 µg;

Día 84 ± 7 días: una séptima dosis de aproximadamente 300-1800 µg;

Día 98 ± 7 días: una octava dosis de aproximadamente 300-1800 µg;

15 Día 112 ± 7 días: una novena dosis de aproximadamente 300-1800 µg; y

Día 126 ± 7 días: una décima dosis de aproximadamente 300-1800 µg.

En un aspecto de la invención como se describe en la presente memoria, de la quinta a la décima dosis pueden ser de aproximadamente 600-1500 pg.

20 Como se analiza anteriormente y en la presente memoria, la pauta de dosificación según la invención maximiza la eficacia de un protocolo de aumento de dosis. La pauta de dosificación según la invención mejora la eficacia y prolonga la eficacia en comparación con una pauta de dosificación en donde se usa un aumento de dosis más corto.

25 Los presentes ejemplos muestran que después de la dosis final, la pauta de dosificación según la presente invención prolonga el tiempo o la duración de la disminución observada en los efectos clínicos, por ejemplo, la formación de lesiones de Gd. En un aspecto de la invención como se describe en la presente memoria, la pauta de dosificación es para prolongar el tiempo o duración de una disminución en los efectos clínicos. En un aspecto, se puede prolongar una disminución en la formación de lesiones de Gd.

### **Péptidos tolerógenos y tolerancia**

Como se usa en la presente memoria, el término "tolerógeno" significa que puede inducir tolerancia a un antígeno particular.

30 La tolerancia es el fracaso en responder contra un antígeno. La tolerancia a autoantígenos es un rasgo característico esencial del sistema inmunitario, cuando se pierde, puede producirse una enfermedad autoinmunitaria. El sistema inmunitario adaptativo debe mantener la capacidad de responder a una enorme variedad de agentes infecciosos, evitando al mismo tiempo el ataque autoinmunitario de los autoantígenos contenidos dentro de sus propios tejidos. Esto se controla en gran medida por la sensibilidad de los linfocitos T inmaduros a la muerte celular apoptótica en el

35 timo (tolerancia central). Sin embargo, no todos los autoantígenos se detectan en el timo, por lo que la muerte de timocitos autorreactivos permanece incompleta, lo que puede dar lugar, por ejemplo, a trastornos autoinmunitarios.

También hay mecanismos por los que los linfocitos T autorreactivos maduros puede adquirir tolerancia en los tejidos periféricos (tolerancia periférica). Se proporciona una revisión de los mecanismos de tolerancia central y periférica en Anderton *et al.* (1999) (Immunological Reviews 169: 123-137).

40 La tolerancia puede resultar de o caracterizarse por la inducción de anergia en al menos una parte de las células T CD4+. Para activar una célula T, un péptido debe asociarse con una APC "profesional" que pueda suministrar dos señales a las células T. La primera señal (señal 1) se suministra por el complejo de MHC-péptido sobre la superficie celular de la APC y se recibe por la célula T a través del TCR. La segunda señal (señal 2) se suministrada por moléculas coestimuladoras en la superficie de la APC, tales como CD80 y CD86, y se recibe por CD28 sobre la

45 superficie de la célula T. Se hipotetiza que, cuando una célula T recibe la señal 1 en ausencia de la señal 2, no se activa y, de hecho, se vuelve anérgica. Las células T anérgicas son resistentes a exposición antigénica posterior, y pueden tener la capacidad de suprimir otras respuestas inmunitarias. Se cree que las células T anérgicas están implicadas en la mediación de la tolerancia de las células T.

### Apítapos son péptidos tolerógenos

En un aspecto de la invención, el péptido tolerógeno es un apítopo.

Como se ha descrito anteriormente, los linfocitos T pueden reconocer epítapos internos de un antígeno proteínico. Las células presentadoras de antígeno (APC) captan antígenos proteínicos y los degradan en fragmentos peptídicos cortos. Un péptido puede unirse a una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) dentro de la célula y transportarse a la superficie celular. Cuando se presenta en la superficie celular junto con una molécula de MHC, el péptido puede reconocerse por una célula T (a través del receptor de células T (TCR)), en cuyo caso el péptido es un epítapo de células T.

Los autores de la presente invención han mostrado previamente que si un epítapo peptídico es de un tamaño apropiado para presentarse por APC inmaduras sin procesamiento de antígeno, puede inducir tolerancia inmunológica (número de publicación de patente internacional WO02/16410).

Los epítapos que no requieren procesamiento adicional pueden inducir tolerancia, y los autores de la invención los han denominado "apítapos" (*Antigen Processing Independent epiTOPES* - epítapos independientes del procesamiento de antígenos).

### Sistemas de presentación independientes del procesamiento de antígenos (APIPS)

Los péptidos tolerógenos o apítapos, por lo tanto, pueden unirse a una molécula de MHC *in vitro* y presentarse a una célula T sin procesamiento de antígeno.

Es posible ensayar si un péptido puede unirse a una molécula de MHC sin procesamiento de antígeno usando un sistema "sin procesamiento". Dicho sistema debe poder presentar antígeno a través de moléculas de MHC a células T, pero no poder procesar antígeno. Por tanto, los péptidos pueden ensayarse con respecto a su capacidad de unirse a una molécula de MHC *in vitro* y presentarse a una célula T sin procesamiento de antígeno usando un sistema de presentación independiente de procesamiento de antígeno (APIPS).

Ejemplos de APIPS incluyen:

a) APC fijada (con o sin anticuerpos contra CD28);

b) membranas lipídicas que contienen moléculas de MHC de clase I o clase II (con o sin anticuerpos contra CD28); y

c) MHC natural o recombinante purificado en forma unida a placa (con o sin anticuerpos contra CD28).

Se conoce el uso de APC fijada para investigar respuestas de células T, por ejemplo, en estudios para investigar el epítapo mínimo dentro de un polipéptido, midiendo la respuesta contra péptidos truncados (Fairchild *et al.* (1996) Int. Immunol. 8: 1035-1043). La APC puede fijarse usando, por ejemplo, formaldehído (normalmente paraformaldehído) o glutaraldehído.

Las membranas lipídicas (que pueden ser membranas planas o liposomas) pueden prepararse usando lípidos artificiales o pueden ser membranas plasmáticas/fracciones microsómicas de APC.

En uso, el APIPS puede aplicarse a los pocillos de una placa de histocultivo. A continuación, se añaden antígenos peptídicos y se detecta la unión del péptido a la parte MHC del APIPS mediante la adición de líneas o clones de células T seleccionados. La activación de la línea o clon de células T puede medirse por cualquiera de los métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, a través de la incorporación de <sup>3</sup>H-timidina o secreción de citocinas.

Si un péptido puede presentarse a una célula T por un APIPS, entonces puede unirse a la molécula de MHC sin procesamiento de antígeno, y es un apítapo.

Sin el deseo de quedar ligados a teoría alguna, se hipotetiza que los péptidos que requieren procesamiento antes de que puedan presentarse junto con moléculas de MHC no inducen tolerancia porque tienen que manipularse por células presentadoras de antígeno maduras. Las células presentadoras de antígeno maduras (tales como macrófagos, células B y células dendríticas) pueden procesar antígenos, pero también pueden suministrar ambas señales 1 y 2 a una célula T, dando lugar a la activación de células T. Por otro lado, los apítapos podrán unirse a MHC de clase II en APC inmaduras. Por tanto, se presentarán a células T sin coestimulación, dando lugar a anergia y tolerancia de células T.

Por supuesto, los apítapos también pueden unirse a moléculas de MHC en la superficie celular de APC maduras. Sin embargo, el sistema inmunitario contiene una mayor abundancia de APC inmaduras que maduras (se ha sugerido que se activan menos de un 10 % de las células dendríticas, Summers *et al.* (2001) Am. J. Pathol. 159: 285-295). La posición por defecto respecto a un apítapo, por lo tanto, será anergia/tolerancia, en lugar de activación.

Se ha demostrado que, cuando se induce tolerancia por inhalación de péptidos, o administración intradérmica o subcutánea, se reduce la capacidad de las células T CD4<sup>+</sup> específicas de antígeno de proliferar. Además, la producción de IL-2, IFN- $\gamma$  e IL-4 por estas células está regulada por disminución, pero la producción de IL-10 está

aumentada. Se ha demostrado que la neutralización de IL-10 en ratones en un estado de tolerancia inducido por péptidos restablece completamente la susceptibilidad a la enfermedad. Se ha propuesto que una población de células reguladoras persiste en el estado tolerante que produce IL-10 y media la regulación inmunitaria (Burkhart *et al.* (1999) *Int. Immunol.* 11:1625-1634).

5 La inducción de tolerancia, por lo tanto, puede controlarse por diferentes técnicas que incluyen:

(a) susceptibilidad reducida a contraer la enfermedad para la que el péptido es un epítipo diana *in vivo*;

(b) la inducción de anergia en células T CD4<sup>+</sup> (que puede detectarse mediante la exposición posterior al antígeno *in vitro*);

(c) cambios en la población de células T CD4<sup>+</sup>, incluyendo

10 (i) reducción de la proliferación;

(ii) regulación por disminución en la producción de IL-2, IFN- $\gamma$  e IL-4; y

(iii) aumento en la producción de L-10.

### Identificación de péptidos que contienen epítopos de células T

Hay varios métodos conocidos en la técnica para identificar los epítopos de células T dentro de un antígeno dado.

15 Los epítopos procesados de forma natural pueden identificarse mediante análisis espectrofotométrico de masas de péptidos eluidos de APC cargadas de antígeno. Estas son APC que se han estimulado para captar antígeno, o se han forzado a producir la proteína de forma intracelular mediante transformación con el gen apropiado. Típicamente, las APC se incuban con proteína en solución o adecuadamente dirigida a la superficie celular de la APC. Después de la incubación a 37 °C, las células se lisan en detergente y la proteína de clase II se purifica, por ejemplo, por  
20 cromatografía de afinidad.

El tratamiento del MHC purificado con un medio químico adecuado (por ejemplo, condiciones ácidas) da como resultado la elución de péptidos del MHC. Esta combinación de péptidos se separa y el perfil se compara con el péptido de la APC de control tratada de la misma manera. Los picos únicos para las células que expresan/alimentadas con proteína se analizan (por ejemplo, por espectrometría de masas) y se identifican los fragmentos peptídicos. Este  
25 procedimiento genera normalmente información sobre la gama de péptidos (normalmente encontrados en "conjuntos anidados") generados a partir de un antígeno particular mediante procesamiento de antígeno.

Otro método para identificar epítopos es cribar una colección sintética de péptidos que se solapan y abarcan la longitud del antígeno en un ensayo *in vitro*. Por ejemplo, pueden usarse péptidos que tienen 15 aminoácidos de longitud y que se solapan en 5 o 10 aminoácidos. Los péptidos se ensayan en un sistema de presentación de antígeno que  
30 comprende células presentadoras de antígeno y células T. Por ejemplo, el sistema de presentación de antígeno puede ser una preparación de esplenocitos murinos, una preparación de células humanas de amígdala o PBMC. Alternativamente, el sistema de presentación de antígeno puede comprender una línea/clon de células T particular y/o un tipo de célula presentadora de antígeno particular.

La activación de células T puede medirse mediante proliferación de células T (por ejemplo, usando incorporación de H-timidina) o producción de citocinas. La activación de células T CD4<sup>+</sup> de tipo TH puede detectarse, por ejemplo, mediante  
35 producción de IFN $\gamma$  que puede detectarse mediante técnicas convencionales, tales como un ensayo ELISPOT.

Los estudios de péptidos solapantes indican normalmente la zona del antígeno en que está localizado un epítipo. El epítipo mínimo para una célula T particular entonces puede evaluarse midiendo la respuesta a péptidos truncados. Por ejemplo, si se obtiene una respuesta contra el péptido que comprende los residuos 1-15 en la colección solapante,  
40 pueden usarse conjuntos que están truncados en ambos extremos (es decir, 1-14, 1-13, 1-12, etc. y 2-15, 3-15, 4-15, etc.) para identificar el epítipo mínimo.

### Péptidos

El término "péptido" se usa en el sentido normal para indicar una serie de residuos, típicamente L-aminoácidos, conectados entre sí típicamente por enlaces peptídicos entre los grupos  $\alpha$ -amino y carboxilo de aminoácidos  
45 adyacentes. El término incluye péptidos modificados y análogos peptídicos sintéticos.

Un péptido para su uso según la presente invención puede tener cualquier longitud que pueda unirse a una molécula de MHC sin procesamiento adicional.

Los péptidos que se unen a moléculas de MHC de clase I tienen típicamente de 7 a 13, más habitualmente de 8 a 10 aminoácidos de longitud. La unión del péptido se estabiliza en sus dos extremos mediante contactos entre átomos en  
50 la cadena principal del péptido y sitios invariables en el surco de unión al péptido de todas las moléculas de MHC de clase I. Hay sitios invariables en ambos extremos del surco que se unen al extremo amínico y carboxílico del péptido.



Las variaciones en la longitud del péptido se acomodan por un retorcimiento en la cadena principal del péptido, a menudo en residuos de prolina o glicina que permiten la flexibilidad requerida.

Los péptidos que se unen a moléculas de MHC de clase II tienen típicamente entre 8 y 20 aminoácidos de longitud, más normalmente entre 10 y 17 aminoácidos de longitud, y pueden ser mucho más largos. Estos péptidos se encuentran en una conformación extendida a lo largo del surco de unión al péptido de MHC II que (a diferencia del surco de unión al péptido de MHC de clase I) está abierto en ambos extremos. El péptido se mantiene en su sitio principalmente por contactos de átomos de la cadena principal con residuos conservados que recubren el surco de unión al péptido. En un aspecto, el péptido puede tener entre 9 y 30 aminoácidos de longitud.

El péptido para su uso según la presente invención puede prepararse usando métodos químicos (Peptide Chemistry, A practical Textbook. Mikos Bodansky, Springer-Verlag, Berlín). Por ejemplo, los péptidos pueden sintetizarse mediante técnicas en fase sólida (Roberge JY *et al.* (1995) Science 269: 202-204), escindir de la resina y purificarse por cromatografía de líquidos preparativa de alto rendimiento (por ejemplo, Creighton (1983) Proteins Structures And Molecular Principles, WH Freeman and Co, Nueva York NY). Puede conseguirse síntesis automatizada, por ejemplo, usando el sintetizador de péptidos ABI 431 A (Perkin Elmer) según las instrucciones proporcionadas por el fabricante.

El péptido puede prepararse alternativamente por medios recombinantes, o por escisión de un polipéptido más largo. Por ejemplo, el péptido puede obtenerse por escisión del antígeno diana. La composición de un péptido puede confirmarse mediante análisis o secuenciación de aminoácidos (por ejemplo, el procedimiento de degradación de Edman).

En una realización preferida, el péptido puede derivar de un antígeno diana. Un antígeno diana es una molécula (por ejemplo, una proteína o glucoproteína) que se procesa por APC y se reconoce por células T durante el transcurso de la enfermedad. El antígeno diana dependerá, por supuesto, de la enfermedad diana. Preferiblemente, el péptido puede derivar de un fragmento del antígeno que surge por procesamiento natural del antígeno por una APC.

Ejemplos de péptidos tolerógenos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, los documentos WO2009/071886, WO2014/072958 y WO2010/133834 se refieren a péptidos tolerógenos que pueden derivar de la proteína del factor VIII, que tiene utilidad en el tratamiento de la hemofilia.

En un aspecto, el sujeto puede tener esclerosis múltiple o neuritis óptica y, por consiguiente, el péptido tolerógeno puede derivar de la proteína básica de mielina. La proteína básica de mielina (MBP) es una proteína de 18,5 kDa que puede aislarse de la materia blanca del cerebro humano. La proteína madura tiene 170 aminoácidos y la secuencia está ampliamente disponible en la bibliografía (véase, por ejemplo: Chou *et al.* (1986) J. Neurochem. 46:47-53, figura 1; Kamholz *et al.* (1986), PNAS 83:4962-4966, figura 2; patente de Estados Unidos n.º 5.817.629, SEQ ID NO: 1; Roth *et al.* (1987), J. Neurosci. 17: 321-328, figura 4; Medevetzky *et al.* (2006), FEBS Letters 580:545-552, figura 3B).

En particular, el péptido tolerógeno puede seleccionarse de:

MBP 30-44: H-Pro-Arg-His-Arg-Asp-Thr-Gly-Ile-Leu-Asp-Ser-Ile-Gly-Arg-Phe-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1)

MBP 83-99: H-Glu-Asn-Pro-Val-Val-His-Phe-Phe-Lys-Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-Thr-Pro-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 2)

MBP 131-145: H-Ala-Ser-Asp-Tyr-Lys-Ser-Ala-His-Lys-Gly-Phe-Lys-Gly-Val-Asp-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 3); y

MBP 140-154: H-Gly-Phe-Lys-Gly-Val-Asp-Ala-Gln-Gly-Thr-Leu-Ser-Lys-Ile-Phe-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 4).

Estos péptidos también se describen en el documento WO2009/056833.

MBP 30-44 también se denomina ATX-MS-01; MBP83-99 también se denomina ATX-MS-04; MBP 131-145 también se denomina ATX-MS-06; y MBP 140-154 también se denomina ATX-MS-07.

En un aspecto preferido de la invención como se describe en la presente memoria, los cuatro MBP 30-44, 83-99, 131-145 y 140-154 se administran al sujeto según la pauta de dosificación de la invención como se describe en la presente memoria. La combinación de los cuatro péptidos se denomina en la presente memoria "ATX-MS-1467" en algunos casos.

En un aspecto, una composición que comprende los cuatro péptidos se administra a un sujeto según la presente invención.

En un aspecto, el sujeto puede tener enfermedad de Graves y, por consiguiente, el péptido tolerógeno puede derivar del receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSHR).

TSHR es un receptor acoplado a proteína G en células foliculares del tiroides en la glándula tiroidea que estimula la producción de tiroxina (T<sub>4</sub>) y triyodotironina (T<sub>3</sub>) a través de una cascada de señales de AMPc tras la unión de su ligando, la hormona estimulante del tiroides (TSH). Tras la internalización, la degradación y la presentación del TSHR por las APC, las células T se activan e interactúan con células B autorreactivas, que a su vez producen autoanticuerpos agonistas estimulantes dirigidos contra TSHR. Las inmunoglobulinas estimuladoras del tiroides se unen al mismo bolsillo receptor que la TSH, activando la transducción de señales mediada por TSHR y dando lugar a la producción de hormona tiroidea en exceso desde la glándula tiroidea y al crecimiento tiroideo.

Por tanto, en un aspecto, el péptido tolerógeno puede seleccionarse de:

KKKKYVSIDVTLLQQLSHKKK (SEQ ID No 5)

GLKMFPDLTKVYST (SEQ ID No 6)

- 5 KKKKYVSIDVTLLQQLSHKKK (SEQ ID NO: 5) también se denomina RNB-5D-K1 en la presente memoria.  
GLKMFPDLTKVYST (SEQ ID NO: 6) también se denomina RNB-9B en la presente memoria.

En un aspecto, una composición que comprende un péptido tanto de SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6 se administra a un sujeto según la presente invención.

- 10 En la composición, la relación relativa de los péptidos (MBP 30-44:MBP 83-99:MBP 131-145:MBP 140-154 o RNB-5D-K1:RNB-9B) puede ser aproximadamente 1:1:1:1 o 1:1, respectivamente (en peso o moles). Alternativamente, las relaciones relativas de cada péptido pueden alterarse, por ejemplo, para centrar la respuesta tolerógena en un subconjunto particular de células T autorreactivas o si se encuentra que un péptido funciona mejor que los otros en tipos de HLA particulares.

- 15 Los términos "MBP 30-44", "MBP 83-99", "MBP 131-145", "MBP 140-154", RNB-5D-K1 y RNB-9B engloban péptidos modificados. Por ejemplo, los péptidos pueden mutarse, mediante inserción, eliminación o sustitución de aminoácidos, siempre que se conserve la especificidad de unión al MHC del péptido no modificado, junto con su capacidad de presentarse a una célula T. El péptido puede tener, por ejemplo, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 mutaciones de la secuencia no modificada.

- 20 Pueden realizarse modificaciones sin cambiar la secuencia de aminoácidos de un péptido. Por ejemplo, pueden incluirse D-aminoácidos u otros aminoácidos no naturales, el enlace amida normal puede remplazarse por enlaces de cadena principal éster o alquilo, sustituyentes N- o C-alquilo, modificaciones de cadena lateral, y pueden incluirse restricciones tales como puentes disulfuro y enlaces amida o éster de cadena lateral. Dichos cambios pueden dar como resultado una mayor estabilidad *in vivo* del péptido y una vida biológica más larga.

- 25 La modificación de epítopos puede realizarse en función de predicciones para una inducción de células T más eficaz derivada usando el programa "Peptide Binding Predictions" ideado por K. Parker (NIH) que puede encontrarse en [http://www.bimas.dcrf.nih.gov/cgi-bin/molbio/ken\\_parker\\_comboform](http://www.bimas.dcrf.nih.gov/cgi-bin/molbio/ken_parker_comboform) (véase también Parker, K. C *et al.* 1994. 152:163).

- 30 En la presente memoria se describen péptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 %, 61 %, 62 %, 63 %, 64 %, 65 %, 66 %, 67 %, 68 %, 69 %, 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 % o 100 % de identidad con un péptido de cualquiera de SEQ ID NO: 1 a 6. En un aspecto, el péptido tiene al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 1 a 6.

- 35 La identidad de secuencia puede evaluarse mediante cualquier método conveniente. Sin embargo, para determinar el grado de identidad de secuencia entre secuencias, son útiles programas informáticos que realizan múltiples alineaciones de secuencias, por ejemplo, Clustal W (Thompson *et al.*, (1994) *Nucleic Acids Res.*, 22: 4673-4680). Programas que comparan y alinean pares de secuencias, como ALIGN (Myers *et al.*, (1988) *CABIOS*, 4: 1-17), FASTA (Pearson *et al.*, (1988) *PNAS*, 85:2444-2448; Pearson (1990), *Methods Enzymol.*, 183: 63-98) y BLAST con huecos (Altschul *et al.*, (1997) *Nucleic Acids Res.*, 25: 3389-3402) también son útiles para este propósito. Además, el servidor Dali en el Instituto Europeo de Bioinformática ofrece alineaciones basadas en estructura de secuencias de proteínas (Holm (1993) *J. Mol. Biol.*, 233: 123-38; Holm (1995) *Trends Biochem. Sci.*, 20: 478-480; Holm (1998) *Nucleic Acid Res.*, 26: 316-9).

- 40 Pueden determinarse múltiples alineaciones de secuencias y cálculos de porcentaje de identidad usando los parámetros de BLAST convencionales (usando secuencias de todos los organismos disponibles, matriz Blosum 62, costes de hueco: existencia 11, extensión 1).

- 45 Alternativamente, puede usarse el siguiente programa y parámetros: Programa: Align Plus 4, versión 4.10 (Sci Ed Central Clone Manager Professional Suite). Comparación de ADN: Comparación global, matriz de puntuación lineal convencional, penalización por discrepancia = 2, penalización por hueco abierto = 4, penalización por hueco ampliado = 1. Comparación de aminoácidos: Comparación global, matriz de puntuación BLOSUM 62.

- 50 Las variantes de las secuencias indicadas o dadas retienen la actividad funcional del precursor, es decir, las variantes son funcionalmente equivalentes, en otras palabras, tienen o presentan una actividad del péptido precursor como se define en la presente memoria. Dichas variantes pueden comprender sustituciones, adiciones o eliminaciones de aminoácidos (incluyendo truncamientos en uno o ambos extremos) de la secuencia precursora, por ejemplo, de uno o más, por ejemplo, de 1 a 14 aminoácidos.

También se describen en la presente memoria derivados funcionalmente equivalentes en que uno o más de los aminoácidos se derivatizan químicamente, por ejemplo, se sustituyen con un grupo químico.

Por tanto, los péptidos descritos en la presente memoria pueden comprender partes o fragmentos de SEQ ID NO: 1-6, siempre que el péptido conserve la actividad requerida. Los fragmentos o partes de SEQ ID NO: 1-6 pueden tener, por ejemplo, de 6 a 14 residuos de longitud, por ejemplo, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o 13 residuos de longitud.

Los péptidos descritos en la presente memoria pueden comprender entre 8 y 30 aminoácidos, por ejemplo, de 8 a 25 aminoácidos, de 8 a 20 aminoácidos, de 8 a 15 aminoácidos u de 8 a 12 aminoácidos. Un péptido puede tener, por tanto, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 aminoácidos de longitud.

Los péptidos pueden formularse en la composición como formas neutras o salinas. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adición de ácido (formadas con grupos amino libres del péptido) y que se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como acético, oxálico, tartárico y maleico. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivar de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxido de sodio, potasio, amonio, calcio o férrico, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, 2-etilaminoetanol, histidina y procaína.

El documento WO2015/019302 se refiere a péptidos tolerógenos que pueden derivar del receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSHR) humano que tienen utilidad en el tratamiento de la enfermedad de Graves. Péptidos descritos en el documento WO2015/019302 son adecuados para su uso según la presente invención. Péptidos descritos en el documento WO2016/103213 son también adecuados para su uso según la presente invención.

#### **Enfermedades diana**

Los péptidos como se describen en la presente memoria se usan según la presente invención para tratar o prevenir una afección asociada con tolerancia inmunitaria aberrante o patológica. Como se analiza anteriormente, la tolerancia inmunitaria es un estado de falta de respuesta del sistema inmunitario a sustancias o tejidos que tienen la capacidad de provocar una respuesta inmunitaria.

Pueden usarse apítosos para MHC de clase I, por ejemplo, para modificar respuestas antivíricas CD8+ de una manera tolerógena.

Es probable que un apítoso para MHC de clase II sea particularmente útil en enfermedades que están mediadas por respuestas de células T CD4+. Por ejemplo, enfermedades que se establecen o mantienen por una respuesta inapropiada o excesiva de células T CD4+.

Es probable que dicho péptido sea particularmente útil en el tratamiento de trastornos de hipersensibilidad. Las reacciones de hipersensibilidad incluyen:

(i) alergias, resultantes de respuestas inapropiadas a sustancias exógenas inocuas;

(ii) enfermedades autoinmunitarias, resultantes de respuestas a antígenos de tejido propio por células T autorreactivas; y

(iii) rechazo de injerto, resultante de respuestas a un trasplante.

Ejemplos de alergias incluyen, pero no se limitan a: fiebre del heno, asma extrínseca, alergias a mordeduras y picaduras de insectos, alergias a alimentos y fármacos, rinitis alérgica, bronquitis crónica por asma bronquial, síndrome anafiláctico, urticaria, angioedema, dermatitis atópica, dermatitis alérgica por contacto, eritema nodoso, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson, rinoconjuntivitis, conjuntivitis, venulitis necrotizante cutánea, enfermedad pulmonar inflamatoria y enfermedades cutáneas ampollares.

Ejemplos de enfermedades autoinmunitarias incluyen, pero no se limitan a: artritis reumatoide (RA), miastenia grave (MG), esclerosis múltiple (MS), lupus eritematoso sistémico (SLE), tiroiditis autoinmunitaria (tiroiditis de Hashimoto), enfermedad de Graves, uveítis (incluyendo uveítis intermedia), enfermedad inflamatoria del intestino, uveorretinitis autoinmunitaria, polimiositis y determinados tipos de diabetes, vasculitis sistémica, polimiositis-dermatomiositis, esclerosis sistémica (esclerodermia), síndrome de Sjogren, espondilitis anquilosante y espondiloartropatías relacionadas, fiebre reumática, neumonitis por hipersensibilidad, aspergilosis broncopulmonar alérgica, neumooniosis de polvo inorgánico, sarcoidosis, anemia hemolítica autoinmunitaria, trastornos plaquetarios inmunológicos, criopatías tales como criofibrinogenemia y poliendocrinopatías autoinmunitarias.

En una realización preferida de la invención, el sujeto tiene esclerosis múltiple y/o neuritis óptica. En un aspecto preferido, el sujeto tiene preferiblemente esclerosis múltiple.

En una realización preferida alternativa de la invención, el sujeto tiene enfermedad de Graves.

Una variedad de tejidos se trasplanta comúnmente en medicina clínica, incluyendo riñón, hígado, corazón, pulmón, piel, córnea y médula ósea. Todos los injertos, excepto los injertos de córnea y algunos de médula ósea, requieren habitualmente inmunosupresión a largo plazo en la actualidad.

### Esclerosis múltiple

- 5 La esclerosis múltiple (MS) es una enfermedad inflamatoria crónica caracterizada por múltiples lesiones desmielinizantes diseminadas por toda la materia blanca del SNC y que se producen en diversos sitios y momentos (McFarlin y McFarland, 1982 New England J. Medicine 307:1183-1188 y 1246-1251).

La destrucción gradual de la mielina se produce en parches en todo el cerebro y/o la médula espinal, interfiriendo con la conectividad neural y provocando debilidad muscular, pérdida de coordinación y alteraciones en el habla y visuales.

- 10 Las referencias a esclerosis múltiple o MS en la presente memoria pretenden englobar los cuatro tipos de esclerosis múltiple, incluyendo: recidivante-remitante, primaria-progresiva, secundaria-progresiva y progresiva-recidivante.

La MS recidivante-remitante es la forma más común y afecta aproximadamente a un 85 por ciento de los diagnosticados por primera vez con la enfermedad y afecta a aproximadamente un 60 por ciento de las personas que viven con MS. Aunque la mayoría de los nuevos diagnósticos de esclerosis múltiple se clasifican como recidivante-remitante, un individuo puede desarrollar otra forma de la enfermedad con el tiempo.

- 15

En esclerosis múltiple recidivante-remitante, los pacientes experimentan un periodo de síntomas activos, denominado recidivante, seguido de periodos sin síntomas, denominado remisión. Algunas personas con esclerosis múltiple recidivante-remitante pasan un año o más entre recidivas; otras las tienen más frecuentemente.

- 20 En lo que respecta a MS secundaria-progresiva, los pacientes recidivantes-remitentes a menudo desarrollan esclerosis múltiple secundaria-progresiva en algún momento entre 10 y 15 años después de su diagnóstico inicial de esclerosis múltiple recidivante-remitante. Una vez diagnosticadas con esclerosis múltiple secundaria-progresiva, las personas notarán un cambio en el patrón de su enfermedad. Aunque pueden producirse aún algunos ataques agudos (exacerbaciones) y periodos de remisión, se producen con menos frecuencia, la recuperación es menos completa y los síntomas se vuelven crónicos, empeorando gradualmente con el tiempo.

- 25 Aproximadamente un 10 por ciento de los pacientes con MS se diagnostican con esclerosis múltiple primaria-progresiva. En esta forma más grave de esclerosis múltiple, las exacerbaciones o ataques, observados en personas con MS recidivante-remitante, son infrecuentes, si los hay. En su lugar, los síntomas de MS empeoran con el tiempo, dando lugar gradualmente a discapacidad.

- 30 La MS progresiva-recidivante es el tipo menos común de esclerosis múltiple. Al igual que la MS primaria-progresiva, esta forma de esclerosis múltiple se caracteriza por un empeoramiento gradual de los síntomas con el tiempo, pero los pacientes con este tipo de MS también experimentarán exacerbaciones y remisiones. A diferencia de MS recidivante-remitante, sin embargo, las personas con esclerosis múltiple progresiva-recidivante típicamente no recuperan el funcionamiento completo después de una recidiva de los síntomas. En MS progresiva-recidivante, la discapacidad está provocada por la combinación de la progresión de la enfermedad y la recuperación incompleta después de un ataque.

- 35

En un aspecto de la invención como se describe en la presente memoria, el sujeto tiene MS recidivante. La referencia a "MS recidivante" engloba pacientes con MS recidivante-remitante, así como pacientes que se mueven de MS recidivante-remitante a MS secundaria-progresiva.

### Neuritis óptica

- 40 La neuritis óptica (ON) es una inflamación, con desmielinización concomitante, del nervio óptico que abastece la retina del ojo. Es una afección variable y puede presentarse con cualquiera de los siguientes síntomas: visión borrosa, pérdida de agudeza visual, pérdida de parte o toda la visión en color, ceguera completa o parcial y dolor detrás del ojo.

- 45 La neuritis óptica es uno de los síntomas que se presentan con mayor frecuencia en esclerosis múltiple y es el síntoma más común al inicio de MS. Sin embargo, la ON puede ser atribuible a causas distintas de MS, tales como neuropatía óptica isquémica.

La ON se presenta unilateralmente (en un solo ojo) en un 70 % de los casos.

- 50 Más típicamente, la neuritis óptica afecta primero a personas entre 15 y 50 años de edad. En este grupo de edad, los estudios indican que más de un 50 % de los pacientes se convertirán en esclerosis múltiple en 15 años. Como con MS, las mujeres tienen aproximadamente el doble de probabilidad que los hombres de presentar ON y la prevalencia en personas de raza blanca es mayor que en otros grupos raciales.

Los síntomas principales de la neuritis óptica son:

- Pérdida de agudeza visual (visión borrosa).
- Dolor ocular.
- Discromatopsia (visión en color reducida).
- Fosfenos de movimiento y sonido (sensaciones de parpadeo visual provocadas por el movimiento o sonido del ojo de lado a lado).
- Síntoma de Uhthoff, el empeoramiento de los síntomas con calor o agotamiento.

El tratamiento de ON con una composición según la presente invención puede prevenir, reducir o mejorar cualquiera de estos síntomas. Para supervisar la progresión de ON, la agudeza visual puede medirse convenientemente usando un gráfico de Snellens.

## 10 Enfermedad de Graves

En un aspecto de la invención, el sujeto tiene enfermedad de Graves.

La enfermedad de Graves es una enfermedad autoinmunitaria que afecta a la tiroides. Se caracteriza por una glándula tiroidea hiperactiva, que da como resultado la producción de una cantidad excesiva de hormona tiroidea y el agrandamiento de la glándula tiroidea (bocio). El estado resultante de hipertiroidismo puede provocar una amplia gama de síntomas neuropsicológicos y físicos. La enfermedad de Graves es la causa más común de hipertiroidismo (un 60-90 % de todos los casos) y normalmente se presenta durante la mediana edad, pero también aparece en niños, adolescentes y ancianos. Afecta hasta un 2 % de la población femenina y es entre cinco y diez veces más común en mujeres que en hombres. La enfermedad pediátrica de Graves afecta a aproximadamente 6000 niños en los Estados Unidos (EE. UU.) y 6000 en la Unión Europea (UE). La enfermedad de Graves también es la causa más común de hipertiroidismo grave, que está acompañado por más signos y síntomas clínicos y anomalías de laboratorio en comparación con formas más leves de hipertiroidismo. Hay un fuerte componente hereditario relacionado con la enfermedad de Graves. No hay estudios poblacionales recientes sobre la enfermedad de Graves, sin embargo, existen unos pocos estudios cuasipoblacionales sobre el hipertiroidismo y, por tanto, todas las estimaciones de la incidencia y prevalencia de la enfermedad de Graves son aproximadas. La incidencia de hipertiroidismo varía de 26:100 000 a 93:100 000 y se estima que la prevalencia global es de un 1,3 %, siendo un 40 % de los casos manifiestos y un 60 % subclínicos.

Aproximadamente un 30-50 % de las personas con enfermedad de Graves también padecerá oftalmopatía de Graves (también conocida como orbitopatía de Graves o enfermedad ocular tiroidea) (GO), una exoftalmia en uno o ambos ojos. Muchos casos de GO son leves y autolimitantes, sin embargo, un 20 % de los casos tienen enfermedad de significativa/moderada a grave, requiriendo al menos la mitad de estos esteroides y un 3-5 % de los pacientes con GO tienen enfermedad dolorosa, amenazante para la vista con neuropatía óptica distiroidea. La formación de burbujas en los ojos puede provocar sequedad intensa de la córnea, ya que los párpados no pueden cerrarse por la noche. El aumento de presión en el nervio óptico puede dar lugar a defectos de campo visual y pérdida de visión. La GO también puede estar asociada con mixedemia pretibial.

Los síntomas y signos de la enfermedad de Graves prácticamente todos resultan de los efectos directos e indirectos del hipertiroidismo, siendo las principales excepciones GO, bocio y mixedema pretibial. Los síntomas de hipertiroidismo pueden incluir insomnio, temblor de manos, hiperactividad, pérdida del cabello, sudoración excesiva, intolerancia al calor y pérdida de peso a pesar del aumento del apetito. Más comúnmente, signos adicionales son tiroides no dolorosa a la palpación agrandada de forma difusa (normalmente simétrica), asinergia oculopalpebral, secreción lagrimal excesiva debida a GO, arritmias del corazón e hipertensión. Los pacientes tirotóxicos pueden experimentar cambios en el comportamiento y en la personalidad, tales como psicosis, agitación y depresión. En hipertiroidismo más leve, los pacientes pueden experimentar manifestaciones menos manifiestas, por ejemplo, ansiedad, inquietud, irritabilidad e inestabilidad emocional.

En una realización preferida de la presente invención, el sujeto del método es un mamífero, preferiblemente un gato, perro, caballo, burro, oveja, cerdo, cabra, vaca, ratón, rata, conejo o cobaya, pero lo más preferiblemente el sujeto es un ser humano.

Como se define en la presente memoria, "tratamiento" se refiere a reducir, aliviar o eliminar uno o más síntomas de la afección que se está tratando, con respecto a los síntomas antes del tratamiento.

"Prevención" (o profilaxis) se refiere a retardar o prevenir la aparición de los síntomas de la afección. La prevención puede ser absoluta (de modo que no se produzca ninguna afección) o puede ser eficaz solo en algunos individuos o durante una cantidad de tiempo limitada.

**Pauta de dosificación**

La invención se refiere a un pauta de dosificación de "aumento de la dosis" en donde se administra una pluralidad de dosis al paciente en concentraciones ascendentes.

Según la invención, se emplea el siguiente pauta de dosificación:

- 5      Día 1: una primera dosis de aproximadamente 15 a aproximadamente 40 µg;  
       Día 14 ± 7 días: una segunda dosis de aproximadamente 35-65 µg;  
       Día 28 ± 7 días: una tercera dosis de aproximadamente 80-120 µg;  
       Día 42 ± 7 días: una cuarta dosis de aproximadamente 300-500 µg;  
       Día 56 ± 7 días: una quinta dosis de aproximadamente 300-1800 µg;
- 10     Día 70 ± 7 días: una sexta dosis de aproximadamente 300-1800 µg;  
       Día 84 ± 7 días: una séptima dosis de aproximadamente 300-1800 µg;  
       Día 98 ± 7 días: una octava dosis de aproximadamente 300-1800 µg;  
       Día 112 ± 7 días: una novena dosis de aproximadamente 300-1800 µg; y  
       Día 126 ± 7 días: una décima dosis de aproximadamente 300-1800 µg.
- 15     En un aspecto de la invención como se describe en la presente memoria, de la quinta a la décima dosis pueden ser de aproximadamente 600-1500 µg.  
       Por tanto, el día 1 se administran de aproximadamente 15 a aproximadamente 40 µg del péptido tolerógeno como la primera dosis. En una realización preferida, se administran aproximadamente 25 µg, por ejemplo, aproximadamente de 17 a 35, de 18 a 33, de 20 a 30, de 22 a 28 o de 24 a 26 µg. En una realización más preferida se administran 25 µg.
- 20     La segunda dosis se administra el día 14 ± 7, preferiblemente 3 días, es decir, contándose cada "día" como aproximadamente un periodo de 24 horas después del "día 1". En una realización preferida, la segunda dosis se administra el día 14.  
       Las dosis pueden administrarse en el mismo momento del día o en un momento diferente del día. Preferiblemente, la primera, segunda, tercera y posteriores dosis se administran en el mismo momento del día.
- 25     La segunda dosis es de aproximadamente 35 a aproximadamente 65 µg del péptido tolerógeno. En una realización preferida, la dosis es aproximadamente de 37 a 60, de 40 a 58, de 42 a 56 o de 45 a 55 µg. En una realización particularmente preferida, la segunda dosis es de aproximadamente 50 µg, por ejemplo, 45, 46, 47, 48, 49, 51, 52, 43, 54 o 55 µg. En una realización más preferida, la segunda dosis es de 50 µg.
- 30     La tercera dosis se administra el día 28 ± 7, preferiblemente 3 días, es decir, contándose cada "día" como un periodo de 24 horas después de la primera dosis del "día 1". En una realización preferida, la tercera dosis se administra el día 28.  
       La tercera dosis es de aproximadamente 80 a aproximadamente 120 µg del péptido tolerógeno. En una realización preferida, la tercera dosis es aproximadamente de 85 a 115, de 87 a 113, de 90 a 110, de 92 a 107, de 95 a 105 o de 97 a 102 µg. En una realización particularmente preferida, la tercera dosis es de aproximadamente 100 µg, por ejemplo, 95, 96, 97, 98, 99, 101, 102, 103, 104 o 105 µg. En una realización más preferida, la tercera dosis es de 100 µg.
- 35     La cuarta dosis se administra el día 42 ± 7, preferiblemente 3 días, es decir, contándose cada "día" como un periodo de 24 horas después del "día 1". En una realización preferida, la tercera dosis se administra el día 42.  
       La cuarta dosis es de aproximadamente 300 a aproximadamente 500 µg del péptido tolerógeno. En una realización preferida, la cuarta dosis es aproximadamente de 320 a 480, de 350 a 450, de 365 a 440, de 370 a 430, de 380 a 420 o de 390 a 410 µg. En una realización particularmente preferida, la cuarta dosis es de aproximadamente 400 µg, por ejemplo, 395, 396, 397, 398, 399, 401, 402, 403, 404 o 405 µg. En una realización más preferida, la cuarta dosis es de 400 µg.
- 40     Después de la cuarta dosis, se administran dosis posteriores de aproximadamente 300 a aproximadamente 1800 µg del péptido tolerógeno aproximadamente cada 14 días ± 7, preferiblemente 3 días. Se administran al menos 6 dosis de aproximadamente 300 a aproximadamente 1800 µg. También pueden administrarse más de 6 dosis de aproximadamente 300 a aproximadamente 1800 µg como se analiza en la presente memoria, por ejemplo, pueden administrarse 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 dosis. Las dosis pueden repetirse durante periodos de tiempo de hasta, por ejemplo, veinte años, como se analiza anteriormente.
- 45     Después de la cuarta dosis, se administran dosis posteriores de aproximadamente 300 a aproximadamente 1800 µg del péptido tolerógeno aproximadamente cada 14 días ± 7, preferiblemente 3 días. Se administran al menos 6 dosis de aproximadamente 300 a aproximadamente 1800 µg. También pueden administrarse más de 6 dosis de aproximadamente 300 a aproximadamente 1800 µg como se analiza en la presente memoria, por ejemplo, pueden administrarse 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 dosis. Las dosis pueden repetirse durante periodos de tiempo de hasta, por ejemplo, veinte años, como se analiza anteriormente.

Los intervalos entre las dosis según la invención pueden ser, por tanto, de aproximadamente 14 días o dos semanas. Los intervalos pueden ser iguales o pueden ser diferentes a lo largo de todo el periodo. Por ejemplo, pueden usarse diferentes combinaciones de los intervalos, por ejemplo, la primera dosis posterior puede estar en un intervalo de 14 días, mientras que la segunda dosis posterior puede administrarse en un intervalo de 15 días. En una realización más preferida, las dosis posteriores se administran cada 14 días o cada dos semanas.

Las dosis posteriores, las dosis cinco a diez (y opcionalmente las dosis once, doce, trece y catorce) son de aproximadamente 300 a aproximadamente 1800 µg del péptido tolerógeno. En una realización preferida, de la quinta a la décima (y opcionalmente la undécima, duodécima, decimotercera y decimocuarta) dosis es cada una de aproximadamente 400, 500, 600, 800, 1000, 1200 o 1600 µg, por ejemplo, de 400 a 1600, de 600 a 1200, de 600 a 1000 o de 600 a 800 µg. En un aspecto, de la quinta a la décima (y opcionalmente de la undécima a la decimocuarta) dosis es cada una de aproximadamente 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1050, 1100, 1150, 1200, 1250, 1300, 1350, 1400, 1450, 1500, 1550, 1600 o 1650 µg. En una realización particularmente preferida, de la quinta a la décima (y opcionalmente de la undécima a la decimocuarta) dosis es cada una de aproximadamente 800 µg, por ejemplo, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810 u 815 µg. En una realización más preferida, de la quinta a la décima dosis es de 800 µg.

En una realización alternativa, de la quinta a la décima (y opcionalmente de la undécima a la decimocuarta) dosis es cada una de aproximadamente 400 µg, por ejemplo, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410 o 415 µg. En una realización más preferida, de la quinta a la décima dosis es de 400 µg.

En una realización alternativa, de la quinta a la décima (y opcionalmente de la undécima a la decimocuarta) dosis es cada una de aproximadamente 1600 µg, por ejemplo, 1585, 1586, 1587, 1588, 1589, 1590, 1591, 1592, 1593, 1594, 1595, 1596, 1597, 1598, 1599, 1601, 1602, 1603, 1604, 1605, 1606, 1607, 1608, 1609, 1610 o 1615 µg. En una realización más preferida, de la quinta a la décima dosis es de 600 µg.

En aspectos alternativos de la invención, se administran dosis adicionales después de las dosis analizadas anteriormente, es decir, el sujeto puede continuar recibiendo dosis después de las dosis iniciales analizadas en la presente memoria.

Las dosis pueden ajustarse en consecuencia si es necesario mediante métodos conocidos en la técnica por los expertos.

Para la administración de péptidos descritos en la presente memoria *in vivo*, puede usarse cualquier modo de administración común o convencional en la técnica, por ejemplo, vía oral, intravenosa, intramuscular, subcutánea, sublingual, intranasal, intradérmica, de supositorio o implante.

En una realización preferida de la invención como se describe en la presente memoria, la administración es intradérmica, por ejemplo, mediante inyección intradérmica. La administración intradérmica puede llevarse a cabo mediante técnicas rutinarias conocidas en la técnica.

El método en su totalidad puede realizarse múltiples veces (por ejemplo, 2, 3 o más veces) después de un intervalo apropiado o partes del método pueden repetirse si es necesario.

En una realización, el método comprende las siguientes etapas:

- (i) Identificación de un antígeno para la afección;
- (ii) Identificación de un péptido tolerógeno para el antígeno; y
- (iii) Administrar el péptido tolerógeno al sujeto según la presente invención.

En una realización adicional, el método comprende identificar a un sujeto con una afección asociada con tolerancia inmunitaria aberrante o patológica o identificar a un sujeto que es probable que desarrolle una afección asociada con tolerancia inmunitaria aberrante o patológica.

El péptido puede estar en forma de una composición, que comprende uno o más diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. Estas composiciones pueden formularse de cualquier manera conveniente según técnicas y procedimientos conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, usando uno o más diluyentes, vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

La composición puede prepararse como un inyectable, como solución o suspensión líquida; también puede prepararse una forma sólida adecuada para solución en, o suspensión en, líquido antes de la inyección. La preparación también puede emulsionarse, o los péptidos encapsularse en liposomas. El péptido puede alternativamente encapsularse en un vehículo o unirse a la superficie de un vehículo, por ejemplo, una nanopartícula. Los ingredientes activos pueden mezclarse con excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo.

"Farmacéuticamente aceptable", como se menciona en la presente memoria, se refiere a ingredientes que son compatibles con otros ingredientes de las composiciones, así como fisiológicamente aceptables para el destinatario.

Excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato), dextrosa, glicerol, etanol o similares y combinaciones de los mismos.

- 5 Además, si se desea, la composición puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes y/o agentes tamponantes del pH. Las sales tamponantes incluyen fosfato, citrato, acetato. Puede usarse ácido clorhídrico y/o hidróxido de sodio para el ajuste del pH. Para la estabilización, pueden usarse disacáridos tales como sacarosa o trehalosa.

- 10 La naturaleza de la composición y los materiales de vehículo o excipiente, etc., puede seleccionarse de manera rutinaria según la elección y la vía de administración deseada, el propósito del tratamiento, etc.

El péptido puede administrarse en forma soluble en ausencia de un adyuvante.

Los autores de la presente invención predicen que, a pesar de la "supresión espectadora", puede ser necesario dirigirse a varios clones de células T diferentes para inducir tolerancia de manera eficaz. Por tanto, puede administrarse una pluralidad de péptidos, es decir, más de un péptido, a un individuo para prevenir o tratar una enfermedad.

- 15 La composición farmacéutica puede comprender, por ejemplo, entre 1 y 50 péptidos, preferiblemente entre 2 y 15 péptidos. Los péptidos pueden derivar del mismo antígeno diana o de diferente(s). Preferiblemente, los péptidos pueden unirse todos al MHC de clase I, o pueden unirse todos al MHC de clase II, sin procesamiento adicional, es decir, son apítotos. En una realización preferida, todos los apítotos en la composición farmacéutica pueden unirse al MHC de clase I o de clase II sin procesamiento adicional.

- 20 La composición farmacéutica puede estar en forma de un kit para su uso según la invención, en que algunos péptidos o cada uno de ellos se proporciona por separado para administración simultánea, separada o secuencial.

Alternativamente (o además), si la composición farmacéutica (o cualquier parte de la misma) se va a administrar en múltiples dosis, cada dosis puede envasarse por separado.

- 25 La composición farmacéutica puede comprender una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del péptido o de cada uno de ellos y opcionalmente un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Además, en las composiciones farmacéuticas de la presente invención, el péptido o cada uno de ellos puede mezclarse con cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, agente de recubrimiento o agente solubilizante adecuado.

### Ejemplos

- 30 Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar la presente invención, pero no deben interpretarse como una limitación de la misma. La invención se refiere particularmente a las realizaciones específicas descritas en estos ejemplos

#### Ejemplo 1

Se llevó a cabo una evaluación de dosis ascendente en abierto de la seguridad, inmunología y efecto sobre un biomarcador de eficacia basado en imágenes (exploración por MRI potenciada con gadolinio) de ATX MS 1467 en 40 pacientes que son HLA DRB1\*15 positivos con esclerosis múltiple recidivante.

- 35 Metodología:

- Estudio de dosis ascendente en abierto de fase I. Periodo de valoración de ocho semanas (25, 50, 100, 400 y 800 µg administrados a intervalos de  $14 \pm 3$  días); periodo de tratamiento de dosis completa de 6 semanas (800 µg administrados en 5 ocasiones a intervalos de  $14 \pm 3$  días); periodo de seguimiento de 28 semanas (sin tratamiento con medicación del estudio). Los pacientes en la cohorte 1 se trataron con ATX-MS-1467 por vía intradérmica (i.d.);  
40 los pacientes en la cohorte 2 se trataron con ATX-MS-1467 por vía subcutánea (s.c.). Los datos de seguridad combinados para la cohorte 1 se sometieron a una revisión de seguridad provisional por el Comité de Seguimiento de Datos (DMC) después de que se administrara la última dosis de 800 µg a los primeros 10 y 20 pacientes, respectivamente.



Número de pacientes (planeados y analizados):						
	Cohorte 1 (i.d.)		Cohorte 2 (s.c.)		Total	
	n	%	n	%	n	%
Conjunto - Población de estudio planificada*	20		20		40	
Población de estudio	21		22		43	
ITT	21	(100 %)	22	(100 %)	43	(100 %)
PP	16	(76,2 %)	19	(86,4 %)	35	(81,4 %)
MRI	17	(81,0 %)	20	(90,9 %)	37	(86,0 %)
Estudio completado	19	(90,5 %)	20	(90,9 %)	39	(90,7 %)
Estudio no completado	2	(9,5 %)	2	(9,1 %)	4	(9,3 %)
Razón para la retirada del estudio						
El paciente solicita la interrupción temprana	1	(4,8 %)	2	(9,1 %)	3	(7,0 %)
Paciente cuyo seguimiento fue imposible	1	(4,8 %)	0		1	(2,3 %)
Fase de tratamiento - Población de ITT**						
Tratamiento completado	20	(95,2 %)	22	(100 %)	42	(97,7 %)
Tratamiento no completado	1	(4,8 %)	0		1	(2,3 %)
Razón para la retirada del tratamiento						
Acontecimiento adverso	1	(4,8 %)	0		1	(2,3 %)

\*Los porcentajes se basan en el número de pacientes en la población de estudio.

\*\*Los porcentajes se basan en el número de pacientes en la población de ITT.

i.d. = intradérmica, ITT = intención de tratar, MRI = imágenes de resonancia magnética, PP = según el protocolo, s.c. = subcutánea

5

Diagnóstico y criterios principales para la inclusión

Diagnóstico: antígeno linfocítico humano (HLA)-DRB1\*15 positivo con RMS como se define por los criterios de McDonald y como se evalúa por un neurólogo.

Criterios principales para la inclusión:

- 10
- Niveles iniciales altos de proliferación de células T en respuesta a MBP, definidos como >1000 recuentos por minuto (cpm) con un índice de estimulación >3 en comparación con el fondo.
  - Duración de la enfermedad ≤10 años (desde el primer acontecimiento clínico).
  - Al menos una recidiva documentada en los 12 meses previos o 2 recidivas en los 24 meses previos antes de la selección.
- 15
- Puntuación en la escala de estado de discapacidad ampliada (EDSS) ≤5,5.
  - 18-55 años de edad, ambos incluidos, en el momento del consentimiento informado.
  - Uso de anticonceptivos, para hombres y mujeres, como se define en el protocolo.

Dispuesto y capaz de dar consentimiento informado por escrito.

Producto de ensayo, dosis y modo de administración:

<b>ATX-MS-1467A:</b>	4 mg/ml de mezcla hecha de partes iguales de los péptidos ATX-MS-01, ATX-MS-04, ATX-MS-06 y ATX-MS-07 en solución salina tamponada con fosfato (PBS)
<b>ATX-MS-1467B:</b>	0,5 mg/ml de mezcla hecha de partes iguales de los péptidos ATX-MS-01, ATX-MS-04, ATX-MS-06 y ATX-MS-07 en PBS

Dosis administradas durante el estudio					
Número de dosis	Dosis total (µg)	Dosis de cada péptido (µg)	Volumen de inyección (µl)	ATX-MS-1467A o ATX-MS-1467B	Número de inyecciones
1	25	6,25	50	B	1
2	50	12,5	100	B	1
3	100	25	200	B	2
4	400	100	100	A	1
5	800	200	200	A	2
6	800	200	200	A	2
7	800	200	200	A	2
8	800	200	200	A	2
9	800	200	200	A	2

Modo de administración:

5 Cohorte 1: i.d.

Cohorte 2: s.c.

Duración del tratamiento:

Los pacientes recibieron 1 o 2 inyecciones de ATX-MS-1467 a intervalos de  $14 \pm 3$  días durante 16 semanas.

Criterios para la evaluación

10 Eficacia

Imágenes de resonancia magnética

- MRI Nuevas lesiones potenciadoras de Gd, lesiones hiperintensas T2, lesiones hipointensas T1. Semana -4, día de estudio 1; en la semana anterior o en la visita de la semana 4 y la semana 8; en la semana anterior a las visitas en las semanas 12, 16, 20, 28, 36 y 48, cada visita de seguimiento; visita de finalización temprana. Las MRI se evaluaron como parte de la seguridad y la eficacia.

15

Seguridad

• Acontecimiento adversos (EA):	intensidad, relación con ATX-MS-1467, resultado, acción tomada, comienzo, fecha de resolución, gravedad. Registrado a lo largo del estudio.
• Reacciones del sitio de inyección:	en el momento de cada inyección.
• Constantes vitales:	frecuencia cardíaca, tensión arterial sistólica y diastólica, temperatura corporal. Selección, semana -4, en cada visita de inyección.
• Exploración física:	Selección, semana -4, en cada visita de inyección; visita de finalización temprana.
• ECG de 12 derivaciones:	Selección y semana -4.

• Examen neurológico	sistema funcional de Kurtzke (KFS) y escala de estado de discapacidad expandida (Kurtzke) (EDSS). Selección, semana -4, día de estudio 1, semana 12, cada visita de seguimiento; visita de finalización temprana.
• Hematología:	recuento de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, hemoglobina corpuscular media [MCH], concentración de hemoglobina celular media [MCHC], recuento de glóbulos blancos total y diferencial, recuento de plaquetas. En cada visita.
• Química clínica:	urea, sodio, potasio, cloruro, bicarbonato, creatinina, bilirrubina total, ALT, AST, fosfatasa alcalina [ALP], proteínas séricas, ácido úrico, calcio, fosfato. En cada visita.
• Análisis de orina:	en cada visita.
• Prueba de la función tiroidea:	T3, T4 y TSH. Selección, semana -4 si se obtienen resultados anómalos en la selección, semana 48; visita de terminación temprana.
• Prueba de anticuerpo antipéptido:	Selección. En la semana 16, semana 20 en pacientes que eran HLA-DRB1*15 positivos en la selección.
• Ataques de MS:	en cada visita desde la semana -4.
• Prueba de embarazo en orina:	Selección, semana -4, en cada visita de inyección, primera visita de seguimiento (semana 20); visita de finalización temprana.

#### Métodos estadísticos:

No se realizaron cálculos formales del tamaño de la muestra ni análisis provisionales formales (sin pruebas estadísticas confirmatorias). Los valores de  $p$  se presentaron únicamente con fines descriptivos. Las investigaciones de los ensayos eran exploratorias y las conclusiones se basaron en el conjunto completo de pruebas de pacientes.

Las variables categóricas se presentaron usando el número de observaciones no ausentes ( $n$ ) o el número de pacientes en la población ( $N$ ) según fuera aplicable y los porcentajes (%). Los porcentajes se redondearon a un decimal. Se proporcionaron intervalos de confianza (IC) del 95 % bilaterales cuando fue pertinente. Las variables continuas se describieron mediante el número de observaciones no ausentes ( $n$ ), media aritmética (media), desviación típica (DT), mínimo (mínimo), mediana (mediana), Q1-Q3 y máximo (máximo).

Los análisis de eficacia se basaron en la población de PP (es decir, los pacientes evaluables). El análisis de la evaluación por MRI de lesiones cerebrales (estudio demostrativo preliminar) se basó en la población de MRI. Todos los análisis de seguridad se basaron en la población de ITT. A menos que se indique lo contrario, el valor de referencia para cada paciente presentado en las tablas de resumen se definió como el último valor de evaluación no ausente para un paciente, para ese parámetro particular que era antes del inicio de IMP en el día de estudio 1, incluyendo evaluaciones no programadas o repetidas.

La población de ITT se definió como todos los pacientes que recibieron al menos una administración de IMP en cualquier momento durante el estudio, independientemente del cumplimiento de la elegibilidad y otros criterios del protocolo. La población de seguridad se indicó como la población de ITT para el resumen de los criterios de valoración de seguridad. La población de PP (pacientes evaluables) se definió como todos los pacientes de ITT que cumplieron con el protocolo (es decir, no tuvieron violaciones importantes del protocolo, cumplieron los criterios de inclusión/exclusión, recibieron la pauta de tratamiento completa, no tomaron esteroides u otra medicación prohibida durante la fase de tratamiento) hasta e incluyendo la visita de la semana 20. La población de MRI se definió como la población de PP más aquellos pacientes que tuvieron violaciones importantes para las evaluaciones de PD. La población de MRI se usó para analizar lesiones cerebrales (estudio demostrativo preliminar).

#### Resumen de los resultados

##### Eficacia, MRI

En la población de MRI de la cohorte 1, hubo una disminución global en el número medio de lesiones potenciadoras de Gd nuevas o persistentes desde 3,4 (DT: 8,23) al inicio hasta 2,5 (DT: 4,91) en la semana 48/ET; la disminución desde el inicio hasta la semana 16 (0,9 lesiones; DT: 1,67) fue estadísticamente significativa ( $p = 0,030$ ). Estas tendencias también se observaron en la población de ITT, con una disminución estadísticamente significativa en el número medio de lesiones potenciadoras de Gd nuevas o persistentes desde el día 1 del estudio (5,0, DT: 9,76) hasta la semana 16 (1,2, DT: 1,81;  $p < 0,001$ ) y un aumento desde la semana 16 hasta la semana 48/ET hasta 3,2 (DT:

5,33). También hubo una disminución global en el volumen total de lesiones potenciadoras de Gd en la cohorte 1 de -104,8 mm<sup>3</sup>, de -304,8 mm<sup>3</sup> a un valor inicial de 200,1 mm<sup>3</sup> en la semana 48.

En la cohorte 2, el número medio de lesiones potenciadoras de Gd nuevas o persistentes fue comparable desde el valor inicial (2,3; DT: 5,47) hasta la semana 48/ET (2,1; DT: 3,63). El aumento en el número medio de lesiones potenciadoras de Gd nuevas o persistentes desde el valor inicial (2,3 lesiones; DT: 7,09) fue estadísticamente significativo ( $p = 0,012$ ) a pesar del pequeño cambio en el número medio de lesiones. Las tendencias en la población de ITT de la cohorte 2 también reflejaron las observadas en la población de MRI de la cohorte 2. El aumento en el número medio de lesiones potenciadoras de Gd nuevas o persistentes fue estadísticamente significativo ( $p = 0,010$ ) aunque el número real de lesiones observadas en ambos puntos de tiempo fue comparable (día de estudio 1: 2,1 lesiones; DT: 5,25; semana 16: 3,2 lesiones; DT: 6,80); el número medio de lesiones nuevas o persistentes disminuyó desde la semana 16 hasta la semana 48/ET (2,0 lesiones; DT: 3,48). El volumen total medio de lesiones potenciadoras de Gd en la cohorte 2 fue comparable (cambio global de +13,3 mm<sup>3</sup>) desde el valor inicial (188,6 mm<sup>3</sup>) hasta la semana 48 (201,0 mm<sup>3</sup>).

El número medio de lesiones hiperintensas T2 nuevas o recién agrandadas en la cohorte 1 (población de MRI) fue comparable desde la semana 8 (5,1 lesiones; DT: 8,35) hasta la semana 48 (5,2 lesiones; DT: 9,44). En la cohorte 2, el número medio de lesiones aumentó ligeramente desde la semana 8 (3,5; DT: 7,07) hasta la semana 48 (4,1; DT: 6,64).

El número acumulativo medio de lesiones hipointensas T1 nuevas (evaluadas solo en la semana 48, en comparación con el valor inicial) fue de 7,2 (DT: 12,79) en la cohorte 1 y 7,8 (DT: 9,21) en la cohorte 2; el número total de lesiones hipointensas T1 nuevas en la semana 48 fue de 7,5 (DT: 10,87).

En la población de MRI de la cohorte 1, la proporción de pacientes sin lesiones potenciadoras de GD aumentó de un 52,9 % (9/17) en el día de estudio 1 a un 70,6 % (12/17) en la semana 48. En la cohorte 2, el número de pacientes sin lesiones potenciadoras de GD fue comparable en el día de estudio 1 (65,0 %, 13/20) y la semana 48 (59,5 %, 22/37).

En la cohorte 1, la proporción de pacientes sin lesiones T2 fue comparable en la semana 28 (52,9 %, 9/17) y la semana 48 (56,3 %, 9/16). En la cohorte 2, hubo una ligera disminución en la proporción de pacientes sin lesiones T2 desde la semana 28 (35,0 %, 7/20) hasta la semana 48 (27,8 %, 5/18).

Las evaluaciones de los pacientes sin lesiones T1 se realizaron en/hasta la semana 48 solamente. En este punto de tiempo, un 38,2 % (13/34) de todos los pacientes en la población de MRI estaban sin lesiones, incluyendo un 50,0 % (8/16) de pacientes en la cohorte 1 y un 27,8 % (5/18) de pacientes en la cohorte 2.

Seguridad:

Acontecimientos adversos durante tratamiento

Visión general global de acontecimientos adversos durante el tratamiento - Población de ITT

	<b>Cohorte 1 i.d.</b>	<b>Cohorte 2 s.c.</b>	<b>Total</b>
	<b>[N = 21]</b>	<b>[N = 22]</b>	<b>[N = 43]</b>
	n (%)	n (%)	n (%)
Número de pacientes con cualquier AE de peor gravedad experimentada	17 (81,0 %)	16 (72,7 %)	33 (76,7 %)
Número de pacientes con AE leves	8 (38,1 %)	3 (13,6 %)	11 (25,6 %)
Número de pacientes con AE moderados	9 (42,9 %)	13 (59,1 %)	22 (51,2 %)
Número de pacientes con AE relacionados con el fármaco	14 (66,7 %)	6 (27,3 %)	20 (46,5 %)
Número de pacientes con reacción en el sitio de inyección	12 (57,1 %)	7 (31,8 %)	19 (44,2 %)
Número de pacientes con ataque de esclerosis múltiple	2 (9,5 %)	3 (13,6 %)	5 (11,6 %)

Un AE se definió como durante el tratamiento si la fecha de aparición era en o después de la fecha de la primera dosificación con ATX-MX-1467, y la fecha de aparición no se producía después de la fecha de la visita de la semana 20. Los acontecimientos adversos relacionados con el fármaco fueron aquellos evaluados por el investigador como "posiblemente", "probablemente" o "definitivamente" relacionados con el fármaco del estudio o si la relación no está registrada. AE = acontecimiento adverso, i.d. = intradérmica, IMP = medicamento en investigación, ITT = intención de tratar, s.c. = subcutánea

No hubo TEAE graves; no hubo AE o SAE asociados con muerte; no hubo SAE relacionados con el tratamiento; y no hubo AE que provocaran la suspensión de la dosis o la retirada del estudio. No hubo respuestas de anticuerpos a ningún péptido para ATX-MS-1467 en ninguna cohorte. Solo 1 paciente (2,3 %; cohorte 1) tuvo un EA que dio lugar a la interrupción del fármaco (erupción prurítica 1 semana después de recibir 800 µg de medicación del estudio en la semana 14). No se observaron cambios clínicamente relevantes en los valores de laboratorio, constantes vitales o funciones de Kurtzke (valores medios o cambios medios desde el valor inicial) observados durante el estudio. El número de recidivas de MS no fue inesperado para esta población de pacientes.

Solo 1 paciente experimentó una SAE durante el tratamiento (cohorte 1; recidiva de MS; 800 µg en la semana 17); se evaluó que el acontecimiento no estaba relacionado con ATX-MS-1467.

#### Acontecimientos adversos durante el tratamiento por dosis - Población de ITT

	Dosis (µg)				
	25	50	100	400	800 µg
	Semana 0	Semana 2	Semana 4	Semana 6	semanas 8
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Cohorte 1, N = 21	6 (28,6%)	10 (47,6 %)	12(57,1 %)	7 (33,3 %)	17 (81,0
Cohorte 2, N = 22	4 (18,2%)	7 (31,8 %)	5 (22,7 %)	4 (18,2 %)	12 (54,5

En general, el mayor número de pacientes que informaron de un TEAE en la cohorte 1 se debió al mayor número de reacciones en el sitio de inyección. Aunque el número de pacientes que informaban de un EA tendía a ser el más alto al nivel de dosis combinada de 800 µg, es importante observar que las dosis combinadas de 800 µg incluyen datos de 5 puntos de tiempo (semanas 8, 10, 12, 14 y 16).

En la cohorte 1, los TEAE notificados con más frecuencia a todos los niveles de dosis se observaron en SOC de trastornos generales y condiciones del sitio de administración, siendo el TEAE notificado con más frecuencia por término preferido a todos los niveles de dosis el eritema en el sitio de inyección. La nasofaringitis la experimentaron 3 pacientes (14,3 %) solo al nivel de dosis de 800 µg. La recidiva de la esclerosis múltiple, experimentada por 2 pacientes (9,5 %), también se observó solo a nivel de dosis de 800 µg (semana 14 y semana 16). No hubo otros TEAE, por término preferido, notificadas por más de 1 paciente en la cohorte 1.

En la cohorte 2, los TEAE notificados con más frecuencia en general se observaron en SOC de trastornos del sistema nervioso, siendo el TEAE notificado con más frecuencia por el término preferido cefalea. La recidiva de la esclerosis múltiple la experimentó 1 paciente (4,5 %) al nivel de dosis de 400 µg y 3 pacientes (13,6 %) al nivel de dosis de 800 µg combinada (2 pacientes en la semana 8, 1 paciente en la semana 16). No hubo otros TEAE, por término preferido, notificadas por más de 1 paciente en la cohorte 2.

Dos pacientes en la cohorte 1 y 3 pacientes en la cohorte 2 experimentaron ataques de MS durante el tratamiento. En la cohorte 1, ambos pacientes experimentaron el ataque de MS después del tratamiento a 800 µg. En la cohorte 2, 1 paciente experimentó un ataque de MS después del tratamiento a 400 µg y 3 pacientes después del tratamiento a 800 µg. Ninguno de los acontecimientos se evaluó en relación con el tratamiento, ninguno de los acontecimientos dio como resultado ninguna acción con respecto a la administración de la medicación del estudio y todos los pacientes se recuperaron; solo se evaluó 1 acontecimiento (cohorte 1) como grave. Todos los ataques se evaluaron como de gravedad leve o moderada.

#### Acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento

El mayor número de AE relacionados con el tratamiento en la cohorte 1 se promovió por el mayor número de reacciones en el sitio de inyección experimentadas en esta cohorte. En la cohorte 1, el TEAE relacionado con el fármaco notificado con más frecuencia a todos los niveles de dosis fue eritema en el sitio de inyección (100 µg: n = 8, 38,1 %; 800 µg combinada: n = 9, 42,9 %). Un paciente (4,8 %) informó de pirexia relacionada con el tratamiento (50 µg) y 1 paciente informó de enfermedad de tipo grupo relacionada con el tratamiento (100 µg).

En la cohorte 2, el acontecimiento relacionado con el fármaco informado con más frecuencia se informó también como eritema en el sitio de inyección (800 µg combinada: n = 3, 13,6 %). No hubo otros acontecimientos relacionados con el fármaco notificados por más de 1 paciente en la cohorte 2 a ningún nivel de dosis. No hubo informes de pirexia relacionada con el tratamiento o enfermedad similar a la gripe en la cohorte 2.

Todas las reacciones en el sitio de inyección durante el tratamiento se evaluaron como leves, en ambas cohortes. Todos los TEAE de enfermedad de tipo gripe y pirexia fueron de gravedad moderada. No hubo informes de recidiva de MS relacionada con el fármaco en ninguna cohorte.

## Reacciones en el sitio de inyección durante el tratamiento, cohorte 1 - Población de ITT

	Dosis (µg)				
	25	50	100	400	800 µg
	Semana 0	Semana 2	Semana 4	Semana 6	Semanas 8
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Eritema	4 (19,0 %)	7 (33,3 %)	9 (42,9 %)	5 (23,8 %)	9 (42,9
Endurecimiento	2 (9,5 %)	1 (4,8 %)	1 (4,8 %)	0	4 (19,0
Dolor	1 (4,8 %)	1 (4,8 %)	2 (9,5 %)	1 (4,8 %)	3 (14,3

## Reacciones en el sitio de inyección durante el tratamiento, cohorte 2 - Población de ITT

	Dosis (µg)				
	25	50	100	400	800 µg
	Semana 0	Semana 2	Semana 4	Semana 6	Semanas 8
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Eritema	0	0	1 (4,5 %)	0	3 (13,6 %
Endurecimiento	0	1 (4,5 %)	0	0	1 (4,5 %
Dolor	1 (4,5 %)	0	1 (4,5 %)	0	0
Dolor a la palpación	0	0	0	1 (4,5 %)	0

## Visión general global de acontecimientos adversos que no surgen durante el tratamiento (tras el tratamiento) - Población de ITT

	Cohorte 1 i.d. [N = 21] n (%)	Cohorte 2 s.c. [N = 22] n (%)	Total [N = 43] N (%)
Número de pacientes con cualquier EA de peor gravedad experimentada	9 (42,9 %)	8 (36,4 %)	17 (39,5
Número de pacientes con EA leves	1 (4,8 %)	1 (4,5 %)	2 (4,7 %
Número de pacientes con EA moderados	8 (38,1 %)	7 (31,8 %)	15 (34,9 %
Número de pacientes con SAE	2 (9,5 %)	1 (4,5 %)	3 (7,0 %
Número de pacientes con AE relacionados con el fármaco	2 (9,5 %)	1 (4,5 %)	3 (7,0 %
Número de pacientes con ataque de esclerosis múltiple	4 (19,0 %)	4 (18,2 %)	8 (18,6 %

5

Un EA se definió como el que no surge durante el tratamiento empezando después del tratamiento si la fecha de aparición era después de la fecha de la visita de la semana 20.

Los acontecimientos adversos relacionados con el fármaco son los evaluados por el investigador como "posiblemente", "probablemente" o "definitivamente" relacionados con el fármaco del estudio o si la relación no está registrada.

AE = acontecimiento adverso, i.d. = intradérmica, ITT = intención de tratar, s.c. = subcutánea

Después del tratamiento, no hubo EA graves; no hubo EA ni EA asociados con la muerte; no hubo EA que dieran lugar a la retirada del estudio; no hubo reacciones en el sitio de inyección; y no hubo EA relacionados con el tratamiento.

Cuatro pacientes en la cohorte 1 y 4 pacientes en la cohorte 2 experimentaron una recidiva posterior al tratamiento de la MS; 2 pacientes en la cohorte 1 experimentaron múltiples recidivas posteriores al tratamiento. Se evaluaron dos recidivas posteriores al tratamiento experimentadas por un paciente de la cohorte 1 como posiblemente relacionadas con el tratamiento, pero no graves. Dos pacientes en la cohorte 1 experimentaron una recidiva posterior al tratamiento evaluada como grave, pero ningún acontecimiento se evaluó como relacionado con el tratamiento. Ninguna de las recidivas posteriores al tratamiento observadas en la cohorte 2 se evaluó como relacionadas con el tratamiento del estudio. Una recidiva posterior al tratamiento notificada por un paciente en la cohorte 2 se evaluó como grave. Todos los ataques se evaluaron como moderados.

Ejemplo 2

Se llevó a cabo un ensayo demostrativo preliminar, de un grupo, en abierto para evaluar la seguridad de ATX-MS-1467 (MSC2358825A) y su efecto sobre la tolerancia inmunitaria en sujetos con esclerosis múltiple recidivante.

Metodología:

Este fue un estudio de fase IIa, en abierto, en múltiples centros, en sujetos con MS recidivante. El estudio consistió en 5 periodos; los sujetos permanecieron en el estudio 48 semanas.

Periodo de selección (4 semanas): Antes de entrar en el periodo de control inicial, se seleccionaron los sujetos para establecer su elegibilidad inicial. Se necesitó que los sujetos hubieran completado cualquier tratamiento previo con corticoesteroides al menos 30 días antes de su primer exploración de MRI en la visita 2. Los sujetos que tomaron cualquier otro tratamiento de MS no permitido en la visita 1 interrumpieron todos estos medicamentos tan pronto como fue posible después de haber confirmado que tenían el genotipo DRB1\*15 del antígeno leucocitario humano (HLA) y eran elegibles para el estudio en función de su exploración de MRI en la visita 2.

Periodo de control inicial (8 semanas/3 visitas): Los sujetos que eran HLA-positivos se sometieron a 3 exploraciones de MRI cerebral (con un intervalo mínimo de 28 días entre exploraciones sucesivas) para determinar su elegibilidad en función del grado de actividad de MRI. Después de la confirmación de la elegibilidad del sujeto con respecto a los criterios de MRI, los sujetos pudieron haberse sometido a punción lumbar opcional para la recogida de líquido cefalorraquídeo (CSF). Durante el periodo de control inicial, los sujetos no recibieron tratamiento para la MS.

Periodo de valoración (4 semanas/3 visitas): Después de la finalización del periodo de control inicial, los sujetos elegibles entraron en el periodo de valoración durante el que se valoró ATX-MS-1467 ID bisemanalmente desde la dosis inicial (50 µg) hasta la dosis máxima (800 µg) según el siguiente programa:

Día 1: ATX-MS-1467 50 µg ID

Día 15: ATX-MS-1467 200 µg ID

Día 29: ATX-MS-1467 800 µg ID.

Periodo de tratamiento (16 semanas/8 visitas): Durante el periodo de tratamiento, los sujetos recibieron una dosificación bisemanal con ATX-MS-1467 800 µg ID durante 16 semanas y asistieron a las visitas del estudio para la evaluación de la dosificación y la seguridad a intervalos de 2 semanas; se realizaron evaluaciones clínicas adicionales, incluyendo exploraciones de MRI, en 3 ocasiones durante el periodo de tratamiento.

Periodo de seguimiento (16 semanas/4 visitas): Después de la finalización del periodo de tratamiento, los sujetos entraron en el periodo de seguimiento de 16 semanas. Los sujetos permanecieron fuera del tratamiento del estudio durante este periodo y se evaluaron para el mantenimiento de cualquier efecto terapéutico. Las exploraciones de MRI se realizaron en 3 ocasiones durante el periodo de seguimiento.

Los sujetos que se retiraron prematuramente del tratamiento con ATX-MS-1467, es decir, que se retiraron durante los periodos de valoración o tratamiento, entraron en un periodo de seguimiento de seguridad de 8 semanas (2 visitas).

Número de sujetos:

Se proyectaron al menos 15 sujetos evaluables para su participación en el estudio.

Se seleccionó un total de 93 sujetos para determinar su participación en el estudio, de los que 37 (39,8 %) sujetos se inscribieron en el estudio para comenzar el periodo de control inicial. Hubo 19 sujetos que entraron y completaron el periodo de valoración y entraron en el periodo de tratamiento. Los 19 sujetos tratados se incluyeron en los conjuntos de intención de tratar (ITT), ITT modificada (mITT) y análisis de seguridad.

## Diagnóstico y criterios principales para la inclusión

Pacientes externos masculinos y femeninos, de 18 a 65 años de edad, ambos incluidos, que tenían MS recidivante-remite (RRMS) o MS secundaria progresiva (SPMS) según los criterios de diagnóstico de McDonald (2010), pruebas clínicas de actividad de MS reciente, al menos 1 lesión potenciada por contraste (CEL) en MRI en la visita 2, y la presencia de al menos 1 nueva CEL desde la visita 2 hasta la visita 4 fueron elegibles para la participación en el estudio. Los sujetos tenían que tener una puntuación de la escala ampliada del estado de discapacidad (EDSS) entre 0 y 5,5, ser HLA DRB1\*15 positivos, y ser neurológicamente estables antes del inicio del tratamiento del estudio. Los sujetos no eran elegibles para este estudio si tenían MS primaria progresiva, afecciones renales que impidieran la administración de gadolinio (Gd), recuento de linfocitos  $<500/\mu\text{l}$  o recuento de neutrófilos  $<1500/\mu\text{l}$  en las visitas de pretratamiento, u otras afecciones médicas subyacentes que impidieran la participación en el estudio.

Tratamientos previos con interferón beta, intercambio de plasma o gammaglobulina intravenosa en las 8 semanas anteriores al día 1 del estudio; esteroides u hormona adrenocorticotrópica en los 30 días anteriores a la exploración de MRI de la visita 2; o acetato de glatirámico, agentes citotóxicos, fingolimod, laquinimod, teriflunomida, irradiación linfocítica total, trasplante de células madre o médula ósea, terapia con anticuerpos monoclonales, fumarato de dimetilo, dirucotida, cualquier vacuna de células T relacionada con enfermedad o agente de tolerancia peptídica para el tratamiento de MS no se permitieron.

Producto(s) de ensayo: Dosis y modo de administración, número(s) de lote:

El medicamento en investigación fue ATX-MS-1467 y se administró ID bisemanalmente durante un total de 20 semanas, desde una dosis inicial de 50  $\mu\text{g}$  y se valoró durante 4 semanas hasta la dosis final de 800  $\mu\text{g}$ . Los números de lote individuales están disponibles a petición.

Duración del tratamiento:

Desde la visita 1 hasta la visita 19, la duración máxima de participación en el estudio fue de 48 semanas. La duración del tratamiento del estudio fue de 20 semanas.

Terapia(s) de referencia, dosis y modo de administración, número(s) de lote:

No aplicable.

Criterios para la evaluación

Eficacia:

El criterio de valoración principal fue el cambio en el número promedio de CEL T1 en las últimas 3 exploraciones estando en tratamiento (semanas 12, 16 y 20) en comparación con el número promedio de CEL T1 en las 3 exploraciones del valor inicial (visitas, 2, 3 y 4).

Los criterios de valoración secundarios incluyeron los siguientes:

- MRI
- Número total de CEL T1 en cada visita de MRI programada después de obtener el valor inicial
- Cambio desde el valor inicial (promedio de las 3 exploraciones del valor inicial, visitas 2, 3 y 4) en el número total de CEL T1 en cada visita de MRI programada después de obtener el valor inicial
- Cambio desde el valor inicial (promedio de las 3 exploraciones del valor inicial, visitas 2, 3 y 4) en el volumen total de CEL T1 en cada visita de MRI programada después de obtener el valor inicial
- Número total de lesiones T2 nuevas o recién agrandadas en cada visita de MRI programada después de obtener el valor inicial
- Cambio desde la visita 4 en el número total de CEL T1 en cada visita de MRI programada después de obtener el valor inicial
- Cambio desde la visita 4 en el volumen total de CEL T1 en cada visita de MRI programada después de obtener el valor inicial.
- Clínica
- Tasa media de recidiva anualizada (ARR) en la semana 20
- Tiempo hasta la primera recidiva



- Cambio desde el valor inicial en la puntuación total de EDSS en la semana 20
- Cambio desde el valor inicial en la puntuación total del compuesto funcional de esclerosis múltiple (MSFC) en la semana 20.

También se consideraron los siguientes criterios de valoración exploratorios:

- 5 • Mantenimiento de los efectos de ATX-MS-1467 sobre los parámetros de MRI tras la interrupción del tratamiento en las semanas 28 y 36 en el subgrupo de pacientes que responden
- Modulación de marcadores inmunológicos (por ejemplo, citocinas, anticuerpos) en sangre periférica/leucocitos mononucleares de la sangre periférica (PBMC) y en CSF a lo largo del tiempo
- 10 • Modificaciones de marcadores de enfermedad (por ejemplo, OCB, índice de inmunoglobulina G [IgG], desmielinización) en sangre periférica y en CSF a lo largo del tiempo
- Niveles séricos de anticuerpo antipéptido en las semanas 11, 20 y 24
- Cambios en la proliferación de PBMC inducida por MBP a lo largo del tiempo:
- Cambios desde el valor inicial en la proliferación de PBMC inducida por MBP en la semana 20
- 15 • Cambios desde la semana 20 en la proliferación de PBMC inducida por MBP en la semana 36/final del estudio.

Seguridad:

Los criterios de valoración de seguridad incluyeron los siguientes:

- Naturaleza, frecuencia y gravedad de los acontecimientos adversos durante el tratamiento (TEAE)
- Frecuencia y gravedad de las reacciones en el sitio de inyección
- 20 • Mediciones de las constantes vitales, hallazgos de exploración física, variables de laboratorio clínico, electrocardiogramas, y la frecuencia y el momento de la terminación prematura del estudio.

Métodos estadísticos:

- 25 El tamaño de la muestra para este estudio se basó en 3 suposiciones: (1) Un efecto del tratamiento de reducción de un 70 % en el número de CEL en comparación con el número promedio de CEL en las 3 exploraciones del valor inicial; (2) el número promedio de CEL en el valor inicial fue de 5 con una desviación típica (TE) de 6; y (3) el número promedio de CEL durante el periodo posterior al tratamiento (semanas 24 a 36) fue de 1,5 con una DT de 1,8. Usando un nivel de un 5 % bilateral, >80 % y >90 % de los estudios simulados mostraron un resultado estadísticamente significativo con tamaños de muestra de 12 y 14 sujetos, respectivamente. Por tanto, se seleccionó un tamaño de muestra de 15 sujetos.

- 30 El análisis de los criterios de valoración principales y secundarios se basó en la población de mITT, excepto para la evaluación del mantenimiento de la respuesta que se realizó usando la población de pacientes que responden y análisis de seguridad que se basaron en la población de seguridad. Los pacientes que responden se definieron como aquellos sujetos en los que hubo una reducción desde el valor inicial (promedio de las 3 exploraciones del valor inicial en las visitas 2, 3 y 4) de  $\geq 60$  % en el número de lesiones potenciadoras de Gd T1 en la semana 20 (promedio de las últimas 3 exploraciones estando en tratamiento en las semanas 12, 16 y 20).

- 35 El criterio de valoración principal se analizó usando una prueba no paramétrica del orden con signo de Wilcoxon para una prueba de desplazamiento en la localización debido al efecto del tratamiento en función de una distribución exacta de los datos estadísticos del orden con signo donde la distribución es una convolución de distribuciones binomiales cambiadas de escala. Se realizó un análisis de apoyo para estimar la reducción media del porcentaje en nuevas lesiones potenciadoras de Gd T1 durante el periodo de tratamiento en comparación con el periodo de control del valor inicial usando el modelo de regresión lineal de ecuaciones de estimación generalizada (GEE) con funciones binomiales y de vinculación de Poisson negativas.
- 40

Se llevó a cabo el mismo procedimiento no paramétrico usado para el criterio de valoración de la eficacia principal en función de las nuevas lesiones potenciadoras de Gd T1. Se presentaron los datos estadísticos descriptivos para los criterios de valoración secundarios en cada visita aplicable para el conjunto de análisis de mITT.

- 45 Las variables continuas se resumieron descriptivamente usando el número de observaciones, medias, DT, intervalo de confianza (IC) del 95 %, mediana, mínimo y máximo. Las variables categóricas se resumieron usando recuentos y porcentajes de frecuencia. Las variables de tiempo hasta el acontecimiento se presentaron como gráficos de Kaplan Meier, mediana de supervivencia e IC del 95 %.

## Resumen y conclusiones:

## Disposición de los sujetos:

Se seleccionaron 93 sujetos para determinar su participación en el estudio; se incluyeron 37 (39,8 %) sujetos. Diecinueve (51,4 %) sujetos entraron y completaron el periodo de valoración y 18 (48,6 %) sujetos completaron el periodo de tratamiento. Un sujeto (2,7 %) interrumpió el medicamento en investigación (IMP) debido a un acontecimiento adverso (AE) de diarrea. Un segundo sujeto (2,7 %) retiró el consentimiento después de completar el periodo de tratamiento. Los 19 sujetos elegibles se incluyeron en los conjuntos de análisis de ITT, mITT y seguridad. Siete sujetos que demostraron una reducción desde el valor inicial en el número de lesiones potenciadoras de Gd T1 de  $\geq 60$  % en la semana 20 se incluyeron en el conjunto de análisis de pacientes que responden.

## 10 Características demográficas e iniciales:

La edad media de los sujetos en el estudio fue de 27,1 años (intervalo de 19 a 38 años) con la mayoría de los sujetos  $< 30$  años de edad (73,7 %). La mayoría de los sujetos eran mujeres (78,9 %) y todos los sujetos eran de raza blanca. Los 19 sujetos tenían un diagnóstico de RRMS, informando la mayoría de los sujetos (89,5 %) de 1 a 2 recaídas en los 24 meses antes de la visita 2. La mediana de puntuación de EDSS en el valor inicial fue de 2,00 (intervalo de 1,5 a 3,5). La mediana de la puntuación de MSFC en el valor inicial en función de la población de referencia de la Sociedad Nacional de Esclerosis Múltiple (NMSS) fue de 0,470 (intervalo de -0,95 a 1,21). El número medio y el volumen de lesiones potenciadoras de Gd T1 fueron 7,4 (intervalo de 1 a 31) y 0,838 ml (intervalo de 0,05 a 3,65 ml), respectivamente.

## Resultados de eficacia:

Hubo una disminución estadísticamente significativa en el número promedio de lesiones potenciadoras de Gd T1 en el tratamiento (semanas 12, 16 y 20) en comparación con el valor inicial en función de un análisis no paramétrico usando el conjunto de análisis de mITT ( $p = 0,0143$ ). La estimación de Hodges-Lehmann del desplazamiento de localización (IC del 95 %) fue -1,3 (-6,3, 0,0). De manera similar, hubo una disminución estadísticamente significativa en el número medio de nuevas lesiones potenciadoras de Gd T1 ( $p = 0,0106$ ). La estimación de Hodges-Lehmann del desplazamiento de localización (IC del 95 %) fue -1,3 (-5,7, 0,0). Los resultados del análisis de apoyo de nuevas lesiones potenciadoras de Gd T1 son coherentes con el análisis primario.

Se observaron disminuciones numéricas desde el valor inicial en el recuento y volumen medios de lesiones potenciadoras de Gd T1 en todas las evaluaciones posteriores a la dosis. El número medio de lesiones en el valor inicial fue 7,4 (intervalo de 1 a 31) y el cambio medio desde el valor inicial en el recuento de lesiones varió de -4,6 a -1,6. El volumen medio de la lesión en el valor inicial fue de 0,838 ml (intervalo de 0,05 a 3,65 ml) y el cambio medio desde el valor inicial en el volumen de la lesión varió de -0,579 a -0,225 ml. De manera similar, se observaron disminuciones numéricas en la media de lesiones potenciadores de Gd T1 y los volúmenes desde la semana 0 hasta cada evaluación posterior a la dosis. El cambio medio desde la semana 0 en el recuento de lesiones varió de -3,5 a -0,9 y el cambio medio desde la semana 0 en el volumen de la lesión varió de -0,473 a -0,157 ml. El número medio de nuevas lesiones potenciadoras de Gd T1 fue similar desde la semana 12 (1,5) hasta el final del estudio (que varió de 0,0 en la semana 28 a 2,0 al final del estudio). El número medio de lesiones T2 nuevas/agrandadas disminuyó de 8,0 (intervalo de 0 a 89) en la semana 12 a 1,0 en la semana 16 (intervalo de 0 a 20), y el recuento medio varió de 1,0 a 3,0 en visitas posteriores.

Durante el tratamiento del estudio, se produjo una sola recaída en 3 (15,8 %) sujetos; no se informó ninguna recaída durante el tratamiento para los 16 sujetos restantes. La media estimada de ARR fue de 2,60. Para estos 3 sujetos, el inicio de la recaída se produjo los días 50, 59 y 89 y las estimaciones de Kaplan-Meier de la probabilidad de no experimentar recaída disminuyeron de 1,00 en la semana 4 a 0,84 en la semana 20.

El cambio desde el valor inicial hasta la visita de final de tratamiento en la puntuación de EDSS no fue estadísticamente significativo. De manera similar, los cambios desde el valor inicial hasta la visita del final del tratamiento en las puntuaciones de MSFC no fueron estadísticamente significativos cuando se usaron valores iniciales de sujetos inscritos o valores de la base de datos del grupo de trabajo de NMSS como referencia.

El porcentaje medio del efecto del tratamiento mantenido fue  $\geq 85$  % para 4 (57,1 %) de los 7 sujetos considerados pacientes que responden.

## Resultados de seguridad:

En general, un 78,9 % de los sujetos informó de al menos 1 TEAE durante la realización del estudio; los TEAE en un 57,9 % de los sujetos se evaluaron como relacionados con IMP. Los TEAE notificados con más frecuencia fueron eritema en el sitio de inyección (26,3 %), cefalea (21,1 %) y nasofaringitis (15,8 %).

No hubo muertes, TEAE graves o TEAE de intensidad grave notificados. Un sujeto interrumpió el IMP debido a un TEAE de diarrea, que se prolongó en el tiempo y se evaluó como de intensidad moderada y relacionado con el IMP.

La aparición de TEAE para la mayoría de los sujetos fue <26 días desde el inicio del IMP.

Todas las reacciones en el sitio de inyección (36,8 % de los sujetos) durante el estudio fueron de intensidad leve y los síntomas más frecuentemente notificados fueron eritema, prurito y endurecimiento.

5 Tres sujetos tuvieron una disminución de peso  $\geq 7$  % durante el estudio; por lo demás, no hubo cambios clínicamente relevantes en los parámetros de laboratorio clínico, constantes vitales o electrocardiograma.

Conclusiones:

10 La mediana de disminución en las lesiones potenciadoras de Gd T1 durante el periodo de tratamiento en comparación con el periodo de control del valor inicial fue estadísticamente significativa ( $p = 0,0143$ ) en función de una prueba no paramétrica del orden con signo de Wilcoxon. La estimación de Hodges-Lehmann del desplazamiento de localización (IC del 95 %) fue -1,3 (-6,3, 0,0).

15 Los análisis de apoyo usando modelos de GEE binomiales y de Poisson negativos produjeron hallazgos coherentes. En comparación con el periodo de control del valor de referencia, la reducción media del porcentaje en nuevas lesiones potenciadoras de Gd T1 durante el periodo de tratamiento fue estadísticamente significativa (valor de  $p = 0,0109$ ). La reducción media del porcentaje estimada por GEE (IC del 95 %) usando el modelo binomial negativo fue de un 38,4 % (10,6 %, 57,6 %).

Se observaron disminuciones numéricas desde el valor inicial y desde la semana 0 en el recuento y volumen medios de las lesiones potenciadoras de Gd T1 en todas las evaluaciones posteriores a la dosis.

La mediana del número de lesiones T2 nuevas/agrandadas disminuyó desde 8,0 en la semana 12 hasta 1,0 en la semana 16, y varió de 1,0 a 3,0 en las visitas posteriores.

20 Pocos sujetos (15,8 %) experimentaron recidiva durante el estudio. La probabilidad estimada de Kaplan-Meier de no experimentar recidiva en la semana 20 es de 0,84.

No se observaron cambios estadísticamente significativos desde el valor inicial hasta la visita del final de tratamiento en las puntuaciones de EDSS o MSFC.

25 Para los 7 sujetos considerados pacientes que responden, el porcentaje promedio del efecto del tratamiento mantenido fue  $\geq 50$  %; sin embargo, 3 de estos sujetos tuvieron recuentos de lesiones iniciales muy bajos y, por lo tanto, consiguieron una reducción del 100 %.

No se identificaron problemas de seguridad o tolerabilidad después del tratamiento con ATX-MS-1467 800  $\mu\text{g}$  administrado ID cada 2 semanas.

Ejemplo 3

30 Se compararon los resultados de los dos ensayos de los ejemplos 1 y 2. Como se muestra en las figuras 1 y 2, hubo una disminución significativa en nuevas lesiones, que confirma la eficacia en ambos ensayos. Sin embargo, la figura 1 muestra que el programa de valoración de la dosis es importante para maximizar la eficacia. La valoración de la dosis usada en el primer ensayo dio como resultado una reducción de un 78 % en el número de nuevas lesiones, mientras que la figura 2 muestra que el programa de valoración de la dosis más corto usado en el segundo ensayo no dio lugar a este nivel de reducción. Por otro lado, la figura 2 muestra que el tratamiento repetido a la dosis máxima (800  $\mu\text{g}$ ) prolongó la eficacia. Por tanto, para una eficacia máxima, el aumento de dosis más largo del primer ensayo debe usarse en combinación con el tratamiento prolongado a la dosis máxima como se usa en el segundo ensayo.

Ejemplo 4

40 Estudio de seguridad y demostrativo preliminar de ATX-GD-59 en hombres y mujeres con enfermedad de Graves no tratados actualmente con tratamiento antitiroideo: Un estudio en abierto, con una valoración en ascenso sobre cinco niveles de dosis administrados por inyección intradérmica.

Metodología:

45 Una evaluación de dosis ascendente, en abierto, de la seguridad, tolerabilidad y eficacia de ATX-GD-59 en aproximadamente 12 sujetos evaluables con enfermedad de Graves que son HLA-DRB1\*15, HLA-DRB1\*03 y/o HLA-DRB1\*04 positivos y no tratados actualmente con tratamiento antitiroideo.

"ATX-GD-59" como se denomina en la presente memoria comprende los péptidos RNB-5D-K1 y RNB-9B de SEQ ID No: 5 y 6.

50 Los cuatro primeros sujetos se reclutaron secuencialmente con un mínimo de 48 horas entre la primera dosis de cada sujeto. La dosificación de los sujetos restantes comenzó una vez que el primer sujeto había recibido la segunda dosis y no se identificaron problemas de seguridad.

Hubo una valoración en ascenso sobre cinco niveles de dosis (inyección(es) de 25, 50, 100, 400 y 800 µg) de ATX-GD-59 seguida de inyección(es) de 800 µg inyectados en cinco ocasiones adicionales. Todas las dosis se basaron en el péptido total.

Todas las dosis se administraron por inyección intradérmica a intervalos de 14 +/- 3 días.

5 Criterios de inclusión

1. Un diagnóstico de enfermedad de Graves evaluado por un médico a partir de hallazgos clínicos y de laboratorio y que no está recibiendo tratamiento antitiroideo.

2. Niveles cuantificables de anticuerpos contra TSHR.

10 3. Niveles elevados de T3 libre y/o T4 libre (que no superan los 15 pmol/l y 35 pmol/l respectivamente) incluyendo niveles indetectables de hormona estimulante del tiroides.

4. HLA-DRB1\*15, HLA DRB1\*03 y o HLA DRB1\*04 positivos.

5. Edad de 18-65 años. ambos incluidos, en el momento del consentimiento informado.

6. El sujeto desea y es capaz de dar consentimiento informado por escrito y debe estar dispuesto a cumplir con las evaluaciones/procedimientos del protocolo.

15 7. Los hombres deben ser estériles (biológica o quirúrgicamente) o comprometerse al uso de un método fiable de anticoncepción mientras dure el estudio hasta al menos 90 días después de la última dosis de ATX-GD-59.

8. Las mujeres con capacidad gestante deben:

- ni estar embarazadas ni en periodo de lactancia, ni intentar concebir, y

20 - utilizar un método de anticoncepción muy eficaz como se define a continuación, mientras dure todo el estudio y durante al menos 90 días después de la última dosis de ATX-GD-59.

Criterios de exclusión

1. Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y/o mujeres en el periodo posparto.

2. Antecedentes conocidos de reacciones de hipersensibilidad que, en opinión del investigador, excluirían la participación de los sujetos en el estudio.

25 3. Tratamiento con cualquier fármaco antitiroideo, por ejemplo, carbimazol, en los 3 meses previos antes del día de estudio 1.

4. Tratamiento previo con yodo radiactivo o tiroidectomía (parcial o completa).

5. Signos de orbitopatía moderada o grave, incluyendo compresión del nervio óptico que requiera esteroides y/o una puntuación de actividad clínica >3.

30 6. Bocios grandes y compresivos que provocan síntomas localizados tales como dificultad para tragar o respirar.

7. Tratamiento con esteroides (administrados por vía oral y/o parenteral) u hormona adrenocorticotrópica con la excepción de esteroides inhalados en los tres meses anteriores al día de estudio 1.

8. Síntomas y signos de crisis tiroidea, tales como confusión, pirexia sin otra causa aparte del hipertiroidismo.

9. Enfermedad cardíaca significativa y/o fibrilación auricular que requeriría tratamiento urgente de tirotoxicosis.

35 10. Tratamiento previo con agentes terapéuticos biológicos o basados en péptidos, incluyendo rituximab.

11. Uso previo de vacuna de células T relacionada con la enfermedad o agente de tolerancia peptídica para tratar la enfermedad de Graves.

12. Niveles detectables de anticuerpos en plasma específicos para cualquiera de los péptidos dentro de ATX-A con antecedentes de alergias farmacológicas significativas.

40 13. El uso de cualquier fármaco en investigación, o la participación en cualquier ensayo clínico en los tres meses anteriores al día de estudio 1.

14. Tratamiento con cualquier tratamiento con citocinas o anticitocinas en los tres meses anteriores al día de estudio 1.

15. Función hepática inadecuada, definida por una bilirrubina total, aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) o fosfatasa alcalina >3 veces el límite superior de los valores normales en la visita de selección.
- 5 16. Sujeto con cualquier enfermedad médica o afección psiquiátrica significativa que, en opinión del investigador, impediría la participación en el estudio o afectaría la capacidad de dar consentimiento informado; cualquier otra enfermedad autoinmunitaria clínicamente evidente.
17. Enfermedad clínicamente significativa, determinada por el investigador, en el plazo de 4 semanas antes de la primera dosis (día de estudio 1) de ATX-GD-59.
- 10 18. Antecedentes conocidos de enfermedad infecciosa activa o crónica o cualquier enfermedad que comprometa la función inmunitaria (por ejemplo, VIH+, HTLV-1, enfermedad de Lyme, TB latente o activa, hepatitis).
19. Cirugía mayor en las cuatro semanas previas antes de la visita de selección.
20. Osteoporosis conocida o enfermedad ósea metabólica.
21. Criterios de retirada
22. El sujeto experimenta un acontecimiento adverso intenso o grave que impide que continúe.
- 15 23. El sujeto incurre en una violación significativa del protocolo que da lugar a un mayor riesgo para el sujeto por continuar en el estudio.
24. El sujeto solicita la interrupción temprana.
25. A solicitud del investigador o del patrocinador (por ejemplo, si se considera que la salud del sujeto está comprometida por permanecer en el estudio o el sujeto no está dispuesto o es capaz de cumplir con el protocolo o los procedimientos del estudio).
- 20 26. Se pierde el contacto con el sujeto para el seguimiento.
27. El sujeto requiere tratamientos prohibidos por los criterios de exclusión o el protocolo.
28. El sujeto demuestra una respuesta positiva robusta y creciente en el ensayo de anticuerpos antifármaco acompañado de signos clínicos de una respuesta inmunitaria adversa a cualquier péptido de ATX-GD-59. Estos pueden ser escalofríos inexplicables, fiebre o síntomas similares a la gripe después del tratamiento con ATX-GD-59.
- 25 29. El sujeto, que es mujer, queda embarazada.
30. GD-59 en la visita de selección.

#### Gestión de tirotoxicosis durante el estudio

- 30
  - Los pacientes sintomáticos pueden tratarse con propranolol (hasta 160 mg al día) ajustado para controlar la taquicardia u otros síntomas. Si se requiere un bloqueo alternativo de los receptores beta-adrenérgicos, esto debe acordarse con el supervisor médico del estudio.
  - Si hay una contraindicación al uso de un betabloqueante (por ejemplo, asma), entonces pueden usarse en su lugar bloqueantes de los canales de calcio limitantes de la velocidad (por ejemplo, Diltiazem MR de 120 a 240 mg diarios). Esto también debe acordarse con el supervisor médico del estudio.
- 35 La administración de fármacos antitiroideos durante el estudio está indicada en los siguientes casos:
  - Un sujeto tiene niveles activadores de T3 libre (>20 pM) y/o T4 libre (>45 pM) en 2 visitas programadas o no programadas consecutivas.
  - Pérdida de peso continuada >5 kg desde el valor inicial (día de estudio 1).
  - Taquicardia persistente >120 lpm.
- 40
  - Acontecimiento cardíaco significativo que requeriría tratamiento urgente de tirotoxicosis.
  - Si el investigador o el médico responsable considera que es apropiado administrar fármacos antitiroideos en cualquier punto durante el estudio.

Duración del tratamiento:

El ensayo consiste en una visita de selección, un periodo de dosificación de 18 semanas, una evaluación de la eficacia después de 4 semanas (después de la dosis final) y un periodo de seguimiento de 8 semanas.

Dosis y modo de administración:

- 5 ATX-GD-59 es una mezcla equimolar liofilizada de dos péptidos reconstituidos en la clínica para proporcionar una de dos concentraciones diferentes, dependiendo de la dosis, para inyección antes de la inyección intradérmica.

Concentraciones de dosis: 4 mg/ml y 0,5 mg/ml de contenido total de péptido cuando se reconstituyen en agua para inyección y solución salina al 0,9 %, respectivamente.

Supervisión y análisis de seguridad:

- 10 Los sujetos se observarán en la clínica durante al menos dos horas después de la administración del fármaco del estudio y se registrarán las constantes vitales a intervalos de 15 minutos durante la primera hora y a intervalos de 30 minutos durante la segunda hora. Si el sujeto está bien (en opinión del investigador), entonces se le permitirá salir de la clínica. Se proporcionará a cada sujeto una tarjeta de contacto con un número de teléfono para urgencias.

Se dará a los sujetos diarios para llevar a casa para registrar las reacciones en el sitio de inyección durante al menos 24 horas después de la inyección del fármaco del estudio.

- 15 Los cuatro primeros sujetos se reclutarán secuencialmente con un mínimo de 48 horas entre la primera dosis de cada sujeto. Los datos de seguridad de sujetos individuales se revisarán por el investigador y el patrocinador o el representante del patrocinador después de la primera dosis de ATX-GD-59 y después de ello entre la segunda (semana 10) y la tercera (semana 12) dosis de 800 µg. La dosificación de los sujetos restantes comenzará solo una vez que el primer sujeto haya recibido la segunda dosis (semana 2) de 50 µg y no se identifiquen problemas de seguridad.

- 20 Para los 5 primeros sujetos, los datos de seguridad de sujetos individuales combinados se revisarán por el investigador y el patrocinador o el representante del patrocinador después de la segunda dosis de 800 µg (semana 10) y antes de la tercera dosis de 800 µg (semana 12).

Los datos de seguridad combinados para los 5 primeros sujetos se someterán a una revisión provisional por un Comité de Seguimiento de Datos (DMC) después de que se haya realizado la última dosis de 800 µg (semana 18).

- 25 **Objetivo principal**

El criterio de valoración principal de este estudio es una evaluación de seguridad para garantizar, en primer lugar, que la exposición al fármaco del estudio por vía de dosis intradérmica no dañará a una población afectada por la enfermedad de Graves.

Los criterios de valoración de seguridad, que se evaluarán de forma continua hasta la semana 22, son:

- 30
- Reacciones en el sitio de inyección según informen los sujetos en la tarjeta de diario.
  - Aparición de acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento (acontecimientos adversos), acontecimientos adversos graves y anomalías de laboratorio en comparación con el valor inicial.
  - Resultados de la exploración física, y constantes vitales (informados sobre una base continua y comparados con el valor inicial/selección).
- 35
- Terminación prematura y razones para la terminación prematura del tratamiento y/o el estudio.

Criterios para la evaluación de los objetivos secundarios:

- Niveles de anticuerpo contra TSHR.
- Relación de anticuerpos contra TSHR estimuladores frente a inhibidores.
- Niveles séricos de T3 libre, T4 libre y TSH.

- 40 Criterios para la evaluación de los objetivos exploratorios:

- Actividad de células T en PBMC inducidos por TSHR.
- Firma distintiva de citocinas de células T.
- Ruta de IL-10 y genes asociados (ARNm).

Pauta de dosificación:

Actividad	Selección	Periodo de valoración					Periodo de tratamiento con dosis completa					Seguimiento		*ET /USV
	Sem. -4	Día est. 1	Sem. 2	Sem. 4	Sem. 6	Sem. 8	Sem. 10	Sem. 12	Sem. 14	Sem. 16	Sem. 18	Sem. 22	Sem. 30	
Dosis de medicamento en investigación (µg)	0	25	50	100	400	800	800	800	800	800	800	0	0	0

### Resultados

Los datos de seguridad se analizaron para los 5 primeros pacientes mediante DMC. No se identificaron problemas de seguridad.

5 Además, los datos de nivel de Ab contra T3 libre, así como contra TSHR (TRAB) mostraron:

- Tres de 5 sujetos tenían disminuciones en T3 y TRAB
- Todos los sujetos tenían disminución en los niveles de TRAB estimulantes (TSI)
- Hubo una fuerte correlación (0,92) entre el % de cambio en T3 libre y TRAB
- Hubo una buena correlación (0,84) entre el % de cambio en T3 libre y TSI

Sujeto	Ensayo	% de cambio desde día 1 del est. hasta sem. 18
3501	TBI	
	TSI	-32,45%
	TRAb	-30,33%
	T3	-22,8%
3503	TBI	
	TSI	-61,71%
	TRAb	-64,51%
	T3	-49,33%
3101	TBI	
	TSI	-30,32%
	TRAb	3,58%
	T3	13,60%
3402	TBI	
	TSI	-57,89%
	TRAb	-61,13%
	T3	-17,72%
3301	TBI	
	TSI	-4,48%
	TRAb	16,60%
	T3	21,4%

10

Diversas modificaciones y variaciones de los métodos y usos descritos de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica. Aunque la invención se ha descrito en relación con realizaciones preferidas específicas, debe entenderse que la invención reivindicada no debe limitarse indebidamente a dichas realizaciones específicas. De hecho, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos para llevar a cabo la invención que son obvias para los expertos en biología molecular, inmunología o campos relacionados estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas, que restringen el alcance de la invención.

15

## REIVINDICACIONES

1. Un péptido tolerógeno para su uso en el tratamiento o prevención de una afección asociada con tolerancia inmunitaria aberrante, en donde
  - (a) la afección es esclerosis múltiple o neuritis óptica, y el péptido tolerógeno se selecciona de los péptidos de proteína básica de mielina (MBP) MBP 30-44 (SEQ ID NO: 1), MBP 83-99 (SEQ ID NO: 2), MBP 131-145 (SEQ ID NO: 3) y MBP 140-154 (SEQ ID NO: 4); o
  - (b) la afección es enfermedad de Graves, y el péptido tolerógeno se selecciona de los péptidos del receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSHR) RNB-5D-K1 (SEQ ID NO: 5) y RNB-9B (SEQ ID NO: 6); y
 en donde el péptido tolerógeno se administra mediante un protocolo de aumento de dosis en las siguientes dosis:
  - Día 1: una primera dosis de 15 a 40 µg;
  - Día 14 ± 7 días: una segunda dosis de 35-65 µg;
  - Día 28 ± 7 días: una tercera dosis de 80-120 µg;
  - Día 42 ± 7 días: una cuarta dosis de 300-500 µg;
  - Día 56 ± 7 días: una quinta dosis de 600-1500 µg;
  - Día 70 ± 7 días: una sexta dosis de 600-1500 µg;
  - Día 84 ± 7 días: una séptima dosis de 600-1500 µg;
  - Día 98 ± 7 días: una octava dosis de 600-1500 µg;
  - Día 112 ± 7 días: una novena dosis de 600-1500 µg; y
  - Día 126 ± 7 días: una décima dosis de 600-1500 µg.
2. El péptido tolerógeno para su uso según la reivindicación 1
  - en donde la primera dosis es de 25 µg; y/o
  - en donde la segunda dosis es de 50 µg; y/o
  - en donde la tercera dosis es de 100 µg; y/o
  - en donde la cuarta dosis es de 400 µg.
3. El péptido tolerógeno para su uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde se administra una undécima dosis de 600-1500 µg el día 140 ± 7 días.
4. El péptido tolerógeno para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde se administra una duodécima dosis de 600-1500 µg el día 154 ± 7 días.
5. El péptido tolerógeno para su uso según la reivindicación 4, en donde se administra una decimotercera dosis de 600-1500 µg el día 168 ± 7 días.
6. El péptido tolerógeno para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la quinta, sexta, séptima, octava, novena y décima, y opcionalmente la undécima, duodécima y decimotercera dosis son cada una de 800 µg.
7. El péptido tolerógeno para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la administración del péptido es intradérmica.
8. El péptido tolerógeno para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el péptido tolerógeno se administra a un ser humano.
9. El péptido tolerógeno para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde se administran MBP 30-44 (SEQ ID NO: 1), MBP 83-99 (SEQ ID NO: 2), MBP 131-145 (SEQ ID NO: 3) y MBP 140-154 (SEQ ID NO: 4).
10. El péptido tolerógeno para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde se administran RNB-5D-K1 (SEQ ID NO: 5) y RNB-9B (SEQ ID NO: 6).



Figura 1

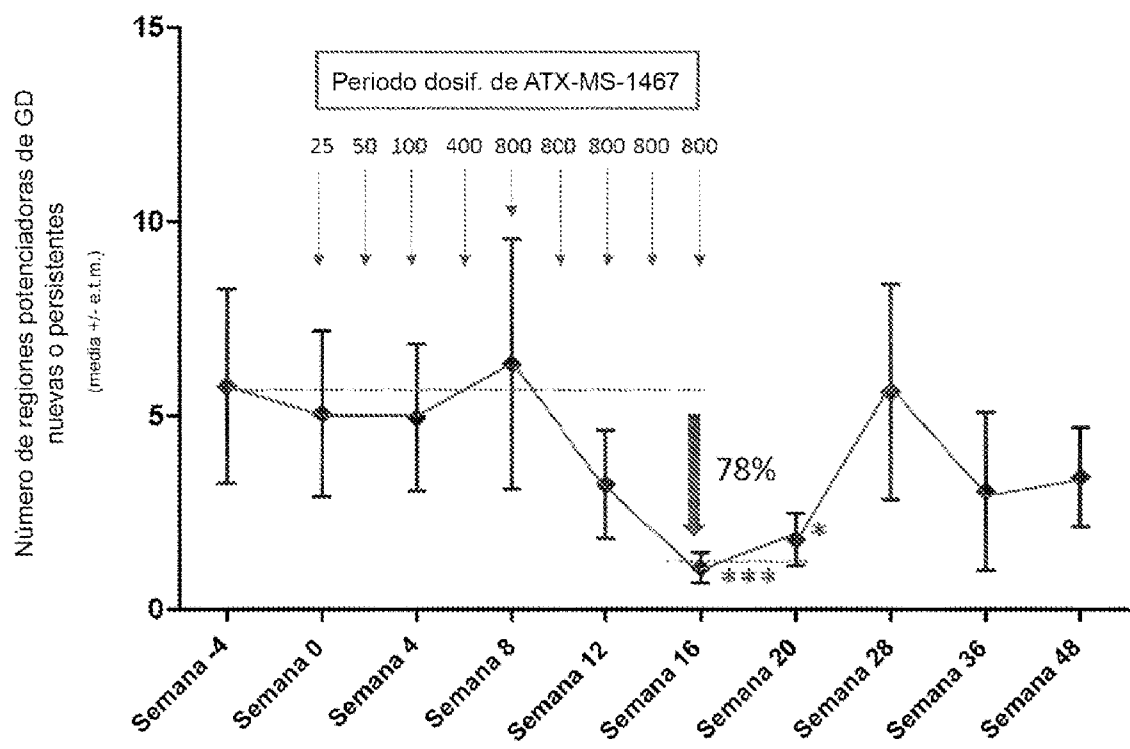


Figura 2

