

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 994 774**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.08.2017 PCT/US2017/049538**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.03.2018 WO18045130**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2017 E 17771619 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.07.2024 EP 3506931**

54 Título: **Métodos para la prevención o el tratamiento de la alergia mediante la administración de un antagonista de IL-4R**

30 Prioridad:

01.09.2016 US 201662382501 P
23.11.2016 US 201662425726 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.01.2025

73 Titular/es:

REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.
(50.00%)
777 Old Saw Mill River Road
Tarrytown, NY 10591, US y
SANOFI BIOTECHNOLOGY (50.00%)

72 Inventor/es:

HAMILTON, JENNIFER D. y
SWANSON, BRIAN N.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 994 774 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

Métodos para la prevención o el tratamiento de la alergia mediante la administración de un antagonista de IL-4R

5 **DECLARACIÓN DE SECUENCIAS**

La presente solicitud contiene un Listado de secuencias que se ha presentado electrónicamente en formato ASCII. Dicha copia en ASCII, creada el 18 de agosto de 2017, se denomina SequenceList_28PCT.txt. y tiene un tamaño 11.043 bytes.

10

Campo de la invención

La presente invención se refiere a dupilumab para su uso en un método de tratamiento de alergia en un sujeto.

15 **Antecedentes**

Las alergias y enfermedades alérgicas son afecciones médicas graves con consecuencias que varían desde respuestas que no son potencialmente mortales y que se resuelven a lo largo del tiempo hasta efectos, tales como anafilaxia, que si son potencialmente mortales. Pueden producirse reacciones alérgicas por contacto o exposición a una diversidad de productos, tales como determinados artículos alimentarios, veneno de insectos, material procedente de plantas (p. ej., polen), productos químicos, fármacos/medicamentos y caspa de animales. La fisiopatología de la alergia está influenciada por una interacción compleja entre la sensibilización mediada por inmunoglobulina E (IgE), el sistema inmunitario y los factores ambientales. Las opciones de tratamiento actuales para las alergias incluyen la evitación, el tratamiento de los síntomas farmacológicos y la profilaxis usando inmunoterapias específicas con alérgenos (SIT). Desafortunadamente, estas estrategias de tratamiento actuales son con frecuencia inadecuadas, costosas, poco prácticas o implican un riesgo significativo. Por ejemplo, la evitación del alérgeno no siempre es posible y puede influir negativamente en la calidad de vida del paciente y del cuidador. Los enfoques inmunoterapéuticos, por otro lado, implican la administración deliberada de alérgeno a sujetos susceptibles y, por lo tanto, son intrínsecamente arriesgados con posibilidad de reacciones alérgicas graves no deseadas o anafilaxia. Por consiguiente, existe una necesidad insatisfecha en la técnica de nuevos enfoques terapéuticos que prevengan o traten alergias o respuestas alérgicas y reduzcan el riesgo de desarrollar una respuesta alérgica.

Se mencionan los siguientes documentos:

- 35
- WO 2014/039461 A1 que se refiere a métodos para el tratamiento de la dermatitis atópica mediante la administración de un antagonista de IL-4R; y
 - US 2015/185228 A1 que se refiere a métodos para detectar anticuerpos en muestras de mucosa y a un dispositivo para tomar muestras de material de mucosa.

40 **Breve resumen de la invención**

La presente invención proporciona dupilumab para su uso en un método para el tratamiento de la alergia en un sujeto, en donde el método comprende:

- 45 (a) seleccionar a un sujeto con un nivel elevado de IgE específica de alérgeno en suero, en donde el nivel de IgE específica de alérgeno en suero es $\geq 0,35$ kU/l antes o en el momento del tratamiento, según lo determinado por un inmunoensayo; y
- 50 (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab, en donde:
- (i) el sujeto tiene asma persistente no controlada a pesar del uso de corticoesteroides inhalados junto con agonistas β_2 de acción prolongada (ICS + LABA, *inhaled corticosteroids plus long-acting β_2*) en dosis medias a altas; y
 - 55 (ii) el sujeto también tiene rinitis alérgica perenne (RAP) comórbida; y
 - (iii) el dupilumab se administra a una dosis de aproximadamente 300 mg cada dos semanas; y
 - 60 (iv) el alérgeno se selecciona del grupo que consiste en *Aspergillus fumigatus*, caspa de gato, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y cucaracha alemana.

En determinados casos, la composición farmacéutica que comprende dupilumab es para su uso en donde se administra por vía subcutánea.

65 **Otras realizaciones y divulgación**

También se desvela dupilumab para su uso en métodos para prevenir o tratar una alergia, en donde la prevención o el tratamiento de la alergia comprende la reducción del nivel de IgE específica de alérgeno. En determinados casos, el sujeto que lo necesita presenta una disminución de al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 % o al menos 50 % de IgE específica del alérgeno después de la administración de dupilumab. En determinados casos, la reacción alérgica o la susceptibilidad de un sujeto a una reacción alérgica se desencadena por la sensibilización al alérgeno. También se desvelan métodos para reducir o anular la sensibilización a alérgenos.

En la presente invención el alérgeno se selecciona del grupo que consiste en *Aspergillus fumigatus*, caspa de gato, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y cucaracha alemana.

También se desvela un sujeto sensibilizado a un alérgeno que procede de una o más de las siguientes fuentes que incluyen, aunque no de forma limitativa, aliso gris, *Alternaria tenuis*, pasto Bermuda, abedul plateado, caspa de gato, *Cladosporium*, cucaracha (alemana), *Dermatophagoides farinae* (ácaro), *D. pteronyssinus*, caspa de perro, olmo, pasto Johnson, roble blanco, ambrosía pequeña, Artemisa salvia, hierba timotea (*Phleum*), fresno blanco, *Candida albicans*, *Malassezia furfur*, *Pityrosporum orbiculare*, moho, enterotoxina A estafilocócica o enterotoxina B estafilocócica. También se desvela un sujeto sensibilizado a un alérgeno que procede de un alimento seleccionado del grupo que consiste en lácteos, pescado, marisco, cacahuets, frutos secos, fruta (p. ej., melón), huevo, trigo y soja.

De acuerdo con algunos casos, el dupilumab de la presente invención es para uso en el método para el tratamiento de la alergia en un sujeto, en donde los métodos comprenden administrar secuencialmente al sujeto aproximadamente 600 mg de dupilumab como dosis inicial seguida de dosis secundarias de aproximadamente 300 mg cada dos semanas. También se desvela dupilumab para su uso en métodos para tratar o prevenir la alergia, o para reducir la susceptibilidad a una reacción alérgica en un sujeto, en donde el sujeto tiene una enfermedad o un trastorno seleccionado del grupo que consiste en dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica, esofagitis eosinofílica y alergia alimentaria. En un caso, el sujeto tiene dermatitis atópica de moderada a grave.

Los antagonistas de IL-4R ilustrativos incluyen, p. ej., inhibidores químicos de molécula pequeña de IL-4R o sus ligandos (IL-4 y/o IL-13), o agentes biológicos que se dirigen a IL-4R o a sus ligandos. De acuerdo con algunos casos, un antagonista de IL-4R es una proteína de unión a antígeno (p. ej., anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo) que se une a la cadena de IL-4R α y bloquea la señalización mediante IL-4, IL-13 o tanto mediante IL-4 como IL-13. En un caso, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une de manera específica a IL-4R, comprende regiones determinantes de la complementariedad (CDR, *complementarity determining regions*) en un par de secuencias de región variable de cadena pesada (HCVR)/región variable de cadena ligera (LCVR) de las SEQ ID NO: 1/2. En determinados casos, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una CDR de cadena pesada (HCDR1) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, una HCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, una HCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, una CDR de cadena ligera (LCDR1) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, una LCDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y una LCDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. Dupilumab es un antagonista del receptor de interleucina-4 (IL-4R, *interleukin-4-receptor*). El antagonista del receptor de interleucina-4 (IL-4R) para su uso en la presente invención es dupilumab.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende el dupilumab es para su uso en donde se administra por vía subcutánea o intravenosa al sujeto.

En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende el dupilumab es para su uso en donde se administra al paciente antes, después o simultáneamente con un segundo agente terapéutico. En algunas realizaciones, el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en otro inhibidor de IL-4R, un inhibidor de IgE, un corticoesteroide (p. ej., un corticoesteroide tópico o sistémico), un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), un antihistamínico, inmunoterapia sistémica e IFN γ .

Otras realizaciones de la presente invención resultarán evidentes a partir de una revisión de la siguiente descripción detallada.

Breve descripción de las figuras

La **figura 1** muestra el cambio porcentual medio de mínimos cuadrados (LS, *least squares*) en las puntuaciones del índice de gravedad y área de eccema (EASI, *Eczema Area Severity Index*) desde el inicio hasta la semana 16 en el estudio descrito en el Ejemplo 1. * $P < 0,0001$ frente a placebo; 1vs, una vez a la semana, EE, error estándar.

La **figura 2** muestra el cambio porcentual medio de LS en las puntuaciones semanales máximas de la escala de calificación numérica (NRS, *numerical rating scale*) del prurito desde el inicio hasta la semana 16 en el estudio descrito en el Ejemplo 1. * $P < 0,01$ frente a placebo; LS, mínimos cuadrados.

La **figura 3** muestra los niveles séricos de la quimiocina regulada y activada del timo (TARC, *thymus and activation-regulated chemokine*) desde el inicio hasta la semana 16 en el estudio descrito en el Ejemplo 2. ** $p < 0,001$ frente a placebo; DPL, dupilumab; PBO, placebo; 1vs, una vez a la semana; EE, error estándar.

La **figura 4** muestra los niveles séricos de la quimiocina regulada y activada del pulmón (PARC, *pulmonary and activation-regulated chemokine*) desde el inicio hasta la semana 16 en el estudio descrito en el Ejemplo 2. *** $p < 0,0001$ frente a placebo; DPL, dupilumab; PBO, placebo; 1vs, una vez a la semana; EE, error estándar.

La **figura 5** muestra los niveles de periostina sérica desde el inicio hasta la semana 16 en el estudio descrito en el Ejemplo 2. * $P < 0,01$ frente a placebo; DPL, dupilumab; PBO, placebo; 1vs, una vez a la semana; EE, error estándar.

La **figura 6** muestra los niveles séricos de IgE total desde el inicio hasta la semana 16 en el estudio descrito en el Ejemplo 2. *** $p < 0,0001$ frente a placebo; DPL, dupilumab; PBO, placebo; 1vs, una vez a la semana; EE, error estándar.

La **figura 7** muestra que dupilumab suprime las IgE específicas de una gran variedad de alérgenos en suero después de un tratamiento de 16 semanas como se describe en el Ejemplo 2.

La **figura 8** muestra la supresión de IgE específicas de una gran variedad de alérgenos en suero después de 16 semanas de tratamiento con placebo, dupilumab 100 mg cada 4 semanas (c4s) o dupilumab 300 mg c4s, como se describe en el Ejemplo 2. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, § $P < 0,001$, ¶ $P < 0,0001$ frente a placebo. *D. farinae*, *Dermatophagoides farinae*; *D. pteronyssinus*, *Dermatophagoides pteronyssinus*; *M. furfur*, *Malassezia furfur*; *P. orbiculare*; *Pityrosporum orbiculare*; Enterotoxina A/B estafil. Enterotoxina A/B estafilocócica. Intervalo intercuartílico: C1, cuartil más bajo; C3, cuartil más alto.

La **figura 9** muestra supresión de IgE específicas de una gran variedad de alérgenos en suero después de un tratamiento de 16 semanas con dupilumab 200 mg cada 2 semanas (c2s), 300 mg c2s o 300 mg semanalmente (1vs) como se describe en el Ejemplo 2. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, § $P < 0,001$, ¶ $P < 0,0001$ frente a placebo. *D. farinae*, *Dermatophagoides farinae*; *D. pteronyssinus*, *Dermatophagoides pteronyssinus*; *M. furfur*, *Malassezia furfur*; *P. orbiculare*; *Pityrosporum orbiculare*; Enterotoxina A/B estafil. Enterotoxina A/B estafilocócica. Intervalo intercuartílico: C1, cuartil más bajo; C3, cuartil más alto.

La **figura 10** muestra la abundancia de *Staphylococcus aureus* en piel con lesiones de pacientes con dermatitis atópica en el estudio del Ejemplo 3.

La **figura 11** muestra la abundancia de *S. aureus* en piel sin lesiones de pacientes con dermatitis atópica en el estudio del Ejemplo 3.

Descripción detallada

Antes de describir la presente invención, debe entenderse que esta invención no se limita a los métodos ni a las condiciones experimentales particulares descritos, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento únicamente tiene el fin de describir realizaciones particulares, y no se pretende que sea limitante, dado que el alcance de la presente invención estará limitado solo por las reivindicaciones adjuntas.

También debe entenderse que cuando en el presente documento se hace referencia a métodos de tratamiento practicados en el cuerpo humano o animal, deben interpretarse como una referencia al producto al que se hace referencia para su uso en dichos métodos.

Debe entenderse además que la divulgación a la que se hace referencia en el presente documento fuera del alcance de las reivindicaciones se mantiene a efectos de referencia.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende habitualmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención. Como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente", cuando se utiliza en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar con respecto al valor indicado en no más de un 1 %. Por ejemplo, como se utiliza en el presente documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101, y todos los valores intermedios (p. ej., 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Como se utiliza en el presente documento, las expresiones "tratar", "tratando", o similares, significan aliviar los síntomas alérgicos, eliminar la causa de los síntomas alérgicos de manera temporal o permanente o impedir o retrasar la aparición de los síntomas alérgicos en un sujeto. Como se utiliza en el presente documento, los términos "impedir", "impidiendo", o similares, se refiere a impedir el desarrollo de alergias, de una reacción alérgica o de una afección alérgica. La expresión, como se utiliza en el presente documento, también incluye reducir o anular la sensibilización a alérgenos para impedir una reacción alérgica. En algunos casos, el término se refiere a la disminución del nivel de IgE específica de alérgeno en suero en al menos un 10 %, al menos un 20 %, al menos un 30 %, al menos el 40 % o al menos el 50 %, en comparación con el valor inicial, después de la administración de dupilumab como proporciona la presente invención.

La presente invención incluye dupilumab para su uso en métodos que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite una composición terapéutica que comprende dupilumab. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "un sujeto que lo necesite" significa un animal humano o no humano que presente uno o más síntomas o indicios de alergia o atopía y/o al que se le ha diagnosticado alergia a un alérgeno. En determinadas realizaciones, la expresión "sujeto que lo necesite" incluye sujetos que tienen un mayor riesgo de desarrollar una alergia o una respuesta alérgica a un alérgeno. En determinadas realizaciones, la expresión incluye sujetos que muestran sensibilización a uno o más alérgenos. En determinados casos, el dupilumab es para su uso en métodos para el tratamiento de sujetos que muestran niveles elevados de uno o más biomarcadores séricos, incluidos, aunque no de forma limitativa, IgE total, IgE específica de alérgeno, quimiocina regulada y activada del timo (TARC), quimiocina regulada y activada del pulmón (PARC), lactato deshidrogenasa (LDH) y periostina. Por ejemplo, la presente invención proporciona dupilumab para su uso en métodos que comprenden administrar dupilumab a pacientes con niveles elevados de IgE específica de alérgeno. Los términos "sujeto" y "paciente" se usan indistintamente en el presente documento. En la presente invención, el sujeto seleccionado es un sujeto con un nivel elevado de IgE específica de alérgeno en suero, en donde el nivel de IgE específica de alérgeno en suero es $\geq 0,35$ kU/l antes o en el momento del tratamiento, según lo determinado por un inmunoensayo. El sujeto tiene asma persistente no controlada a pesar del uso de corticoesteroides inhalados junto con agonistas β_2 de acción prolongada (ICS + LABA) en dosis medias a altas. El sujeto también tiene rinitis alérgica perenne (RAP) comórbida.

Como se utiliza en el presente documento, las expresiones "respuesta alérgica", "reacción alérgica", "síntoma alérgico", y similares, incluyen uno o más signos o síntomas seleccionados del grupo que consiste en urticaria (p. ej., ronchas), angioedema, rinitis, asma, vómitos, estornudos, rinorrea, inflamación sinusal, lagrimeo, respiración sibilante, broncoespasmo, flujo espiratorio máximo (PEF, *peak expiratory flow*) reducido, malestar gastrointestinal, enrojecimiento, labios hinchados, lengua hinchada, reducción de la presión arterial, anafilaxia y disfunción/insuficiencia orgánica. Una "respuesta alérgica", "reacción alérgica", "síntoma alérgico", etc., también incluye respuestas y reacciones inmunitarias, tales como, p. ej., aumento de la producción de IgE y/o aumento de la producción de inmunoglobulinas específicas de alérgenos.

El término "alérgeno", como se utiliza en el presente documento, incluye cualquier sustancia, producto químico, partícula o composición que pueda estimular una respuesta alérgica en un individuo susceptible. Los alérgenos pueden estar contenidos en, o proceder de, un producto alimenticio, tal como, p. ej., productos lácteos (p. ej., leche de vaca), huevo, apio, sésamo, trigo, soja, pescado, marisco, azúcares (p. ej., azúcares presentes en la carne tales como alfa-galactosa), cacahuetes, otras legumbres (p. ej., judías, guisantes, semillas de soja, etc.) y frutos secos. Como alternativa, un alérgeno puede estar contenido en, o proceder de, un producto no alimenticio, tal como, p. ej., polvo (p. ej., que contiene ácaros del polvo), polen, veneno de insecto (p. ej., veneno de abejas, avispas, mosquitos, hormigas rojas, etc.), moho, pelo de animales, caspa de animales, lana, látex, metales (p. ej., níquel), limpiadores domésticos, detergentes, medicamentos, cosméticos (p. ej., perfumes, etc.), fármacos (p. ej., penicilina, sulfonamidas, salicilato, etc.), anticuerpos monoclonales terapéuticos (p. ej., cetuximab), ambrosía, hierba y abedul. Como alérgenos del polen ilustrativos se incluyen, p. ej., pólenes de árboles tales como el polen de abedul, polen de cedro, polen de roble, polen de aliso, polen de carpe, polen de *Aesculus*, polen de sauce, polen de álamo, polen de *Platanus*, polen de tilo, polen de olivo, polen de enebro de Ashe y polen de *Alstonia scholaris*. En cualquier otra parte del presente documento pueden encontrarse otros ejemplos de alérgenos. A lo largo de la divulgación, los términos "alérgeno" y "antígeno" se utilizan indistintamente. En la presente invención, se selecciona a un sujeto que tenga un nivel elevado de IgE específica de alérgeno en suero, en donde el nivel de IgE específica de alérgeno en suero es $\geq 0,35$ kU/l antes o en el momento del tratamiento, según lo determinado por un inmunoensayo. En la presente invención el alérgeno se selecciona del grupo que consiste en *Aspergillus fumigatus*, caspa de gato, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y cucaracha alemana.

También se desvela dupilumab para su uso en métodos para reducir la susceptibilidad a una reacción alérgica en un sujeto, comprendiendo el método, administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab. En determinados casos, la expresión "sujeto que lo necesite" incluye un sujeto que es susceptible a una reacción alérgica o que tiene un mayor riesgo de desarrollar una reacción alérgica a un alérgeno. En determinados casos, un sujeto puede tener un mayor riesgo de desarrollar una alergia o una respuesta alérgica a un alérgeno debido a la sensibilización a dicho alérgeno. Por ejemplo, la expresión incluye sujetos que muestran niveles elevados de IgE sérica específica para uno o más alérgenos ("sensibilización al alérgeno"). En el contexto de dicha divulgación, la expresión "sujeto que lo necesite", también incluye sujetos que tienen una enfermedad o un trastorno seleccionado del grupo que consiste en dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica, esofagitis eosinofílica y alergia alimentaria. El término "sujeto" también incluye sujetos con niveles elevados de IgE sérica total y específica de alérgeno, o quimiocinas séricas (p. ej., CCL17 o CCL27) que pueden tener un mayor riesgo de desarrollar una respuesta alérgica. En la presente invención, el sujeto tiene asma persistente no controlada a pesar del uso de corticoesteroides inhalados junto con agonistas β_2 de acción prolongada (ICS + LABA) en dosis medias a altas y el sujeto también tiene rinitis alérgica perenne (RAP) comórbida. También se desvela dupilumab para su uso en métodos para disminuir el riesgo de desarrollar alergia o respuesta alérgica en sujetos susceptibles.

También se desvela dupilumab para su uso en métodos para reducir en un sujeto los niveles de IgE específica de alérgeno en suero, comprendiendo los métodos administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab. En

determinados casos, los niveles de IgE específica de alérgeno en suero se reducen al menos en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 % o 50 % en comparación con el valor inicial después de la administración del dupilumab.

En la técnica se conocen bien métodos para detectar y/o cuantificar un biomarcador sérico tal como IgE específica de alérgeno o IgE total; kits para medir dicho biomarcador, que se encuentran disponibles en distintas fuentes comerciales; y existen distintos laboratorios de diagnóstico comerciales que ofrecen servicios que también proporcionan mediciones de dichos biomarcadores.

Por ejemplo, Phadiatop™ es una variante disponible en el comercio de la prueba de ensayo de IgE específica de suero o de antígeno que se introdujo para la exploración de la sensibilización alérgica (Merrett et al 1987, Allergy 17: 409-416). La prueba permite realizar pruebas simultáneas de IgE específica de suero frente a una mezcla de alérgenos relevantes que causan alergias inhaladas comunes. La prueba da un resultado cualitativo, ya sea positivo o negativo dependiendo de la respuesta de fluorescencia obtenida. Cuando una muestra de un paciente da una respuesta de fluorescencia mayor o igual a la de la referencia, se indica un resultado positivo de la prueba. Una muestra de un paciente con una respuesta de fluorescencia más baja indica un resultado negativo de la prueba. También se desvela dupilumab para su uso en métodos que comprenden, seleccionar a un sujeto que presente un resultado positivo de la prueba y administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab.

También se desvela dupilumab para su uso en métodos para determinar si un sujeto es un sujeto adecuado para el que la administración de una composición farmacéutica que comprende dupilumab sería beneficiosa. Por ejemplo, si un individuo, antes de recibir una composición farmacéutica que comprende dupilumab, presenta un nivel de un biomarcador sérico (p. ej., IgE específica de alérgeno) lo que significa sensibilización al alérgeno, por lo tanto, al individuo se le identifica como un paciente adecuado para quien sería beneficiosa la administración de una composición farmacéutica de la invención (una composición que comprende dupilumab).

También se desvela dupilumab para su uso en métodos de prevención o tratamiento de alergia, que comprenden: (a) seleccionar a un sujeto que, antes o en el momento del tratamiento, presente un nivel de IgE específica de al menos un alérgeno que signifique sensibilización alérgica; y (b) administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprenda una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab. En determinados casos, el paciente se selecciona determinando si el nivel de IgE específica del alérgeno está elevado. El nivel de IgE específica de alérgeno se determina o cuantifica adquiriendo una muestra del paciente para realizar un ensayo de biomarcador conocido en la técnica. En otros casos determinados, se selecciona un paciente adquiriendo información relativa a un nivel elevado de IgE específica de alérgeno del paciente. En determinados casos de este aspecto de la divulgación, el sujeto se selecciona basándose en un nivel elevado de IgE o TARC o periostina.

Como apreciará un experto familiarizado con la materia, un aumento o una disminución en un biomarcador sérico puede determinarse comparando (i) el nivel del biomarcador medido en un sujeto en un momento definido después de la administración del dupilumab con (ii) el nivel del biomarcador medido en el paciente antes de la administración del dupilumab (es decir, la "medición inicial"). El momento definido al cual se mide el biomarcador puede ser, p. ej., aproximadamente a las 4 horas, 8 horas, 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 15 días, 20 días, 35 días, 40 días, 50 días, 55 días, 60 días, 65 días, 70 días, 75 días, 80 días, 85 días, 100 días, 150 días o más después de la administración del dupilumab.

De acuerdo con algunos casos particulares de la presente invención, un sujeto puede presentar una disminución en el nivel de IgE sérica específica de uno o más alérgenos después de la administración de una composición farmacéutica que comprende el dupilumab. Por ejemplo, aproximadamente el día 8, día 15, día 22, día 25, día 29, día 36, día 43, día 50, día 57, día 64, día 71, día 85 o día 112, después de la administración de una o más dosis de una composición farmacéutica que comprende aproximadamente 300 mg de dupilumab, el sujeto, de acuerdo con la presente invención, puede presentar una disminución de la IgE específica de alérgeno de aproximadamente el 1 %, 2 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o más desde el inicio (en donde "inicio" se define como el nivel de IgE específica de antígeno en el sujeto justo antes de la primera administración).

Antagonistas del receptor de interleucina-4

El antagonista de IL-4R para su uso en la presente invención es dupilumab que puede administrarse al sujeto en una composición terapéutica que comprende el dupilumab.

Como se utiliza en el presente documento, un "antagonista de IL-4R" (también denominado en el presente documento como un "inhibidor de IL-4R", un "antagonista de IL-4Rα", un "bloqueador de IL-4R", un "bloqueador de IL-4Rα", etc.) es cualquier agente que se una o interaccione con IL-4Rα o un ligando de IL-4R, e inhiba o atenúe la función de señalización biológica normal de un receptor de IL-4 de tipo 1 y/o de tipo 2. El IL-4Rα humano tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11. Un receptor de IL-4 de tipo 1 es un receptor dimérico que comprende una cadena IL-4Rα y una cadena γc. Un receptor de IL-4 de tipo 2 es un receptor dimérico que comprende una cadena IL-4Rα y una cadena IL-13Rα1. Los receptores de IL-4 de tipo 1 interaccionan con, y se estimulan mediante, IL-4, mientras que los receptores de IL-4 de tipo 2 interaccionan con, y se estimulan mediante IL-4 y mediante IL-13. Por tanto, los

antagonistas de IL-4R pueden funcionar bloqueando la señalización mediada por IL-4, la señalización mediada por IL-13 o la señalización mediada por IL-4 y por IL-13. Los antagonistas de IL-4R pueden por tanto impedir la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de tipo 1 o de tipo 2.

Como ejemplos no limitativos de categorías de antagonistas de IL-4R se incluyen inhibidores de molécula pequeña de IL-4R, aptámeros anti-IL-4R, inhibidores de IL-4R basados en péptidos (p. ej., moléculas de "peptidocuerpos"), "cuerpos receptores" (p. ej., moléculas genotecnológicas que comprenden el dominio de unión a ligando de un componente de IL-4R), y anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de unión a antígeno que se unen específicamente a IL-4Rα humano. Como se utiliza en el presente documento, los antagonistas de IL-4R también incluyen proteínas de unión a antígeno que se unen específicamente a IL-4 y/o a IL-13.

Anticuerpos anti-IL-4Rα y fragmentos de unión a antígeno de los mismos

El antagonista de IL-4R para su uso de acuerdo con la presente invención es el anticuerpo dupilumab.

El término "anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H, *heavy*) y dos cadenas ligeras (L, *light*) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (p. ej., IgM). En un anticuerpo normal, cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o V_H) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, C_H1, C_H2 y C_H3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o V_L) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (C_L1). Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones estructurales (FR, *framework regions*). Cada V_H y V_L comprende tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes casos, las FR del anticuerpo anti-IL-4R (o parte de unión a antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana o pueden estar modificadas de forma natural o artificial. Una secuencia de aminoácidos consenso puede definirse basándose en un análisis en paralelo de dos o más CDR.

El término "anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, también incluye fragmentos de unión a antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Las expresiones "parte de unión a antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo y similares, como se utiliza en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o genomodificado que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Pueden obtenerse fragmentos de unión a antígeno de un anticuerpo, p. ej., de moléculas de anticuerpo completas, mediante cualquier técnica convencional adecuada, tal como digestión proteolítica o técnicas recombinantes de ingeniería genética que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica los dominios variables y, opcionalmente, los constantes, de un anticuerpo. Dicho ADN se conoce y/o puede adquirirse fácilmente, p. ej., en fuentes comerciales, bibliotecas de ADN (incluidas, p. ej., fagotecas de anticuerpos) o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o mediante técnicas de biología molecular, por ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear restos de cisteína, modificar, añadir o eliminar aminoácidos, etc.

Algunos ejemplos no limitativos de fragmentos de unión a antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')₂; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas de Fv monocaténario (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimo que consisten en los restos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de complementariedad (CDR) aislada, tal como un péptido CDR3) o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas genotecnológicas, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos con dominio eliminado, anticuerpos quiméricos, anticuerpos con CDR injertadas, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (p. ej., nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), agentes inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP, *small modular immunopharmaceuticals*) y dominios IgNAR variables de tiburón, también se incluyen en la expresión "fragmento de unión a antígeno", como se utiliza en el presente documento.

Un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede tener cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que es adyacente a, o está dentro del, marco de lectura (*in-frame*), con respecto a una o más secuencias estructurales. En los fragmentos de unión a antígeno que tienen un dominio V_H asociado a un dominio V_L, los dominios V_H y V_L pueden situarse uno con respecto al otro en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimérica y contener los dímeros V_H-V_H, V_H-V_L o V_L-V_L. Como alternativa, el fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V_H o V_L monomérico.

En determinados casos, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido de manera covalente a al menos un dominio constante. Configuraciones ilustrativas, no imitativas, de dominios variables y constantes que pueden encontrarse dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo

incluyen: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3; y (xiv) V_L-C_L. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluidas cualquiera de las configuraciones ilustrativas enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente entre sí o pueden estar unidos mediante una región bisagra o enlazadora completa o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que producen una unión flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula polipeptídica. Asimismo, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante enumeradas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V_H o V_L monoméricos (por ejemplo, mediante uno o más enlaces disulfuro).

El término "anticuerpo", como se utiliza en el presente documento, también incluye anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un anticuerpo multiespecífico o fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable es capaz de unirse específicamente a un antígeno diferente o a un epítipo distinto en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico puede adaptarse para su uso en el contexto de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno utilizando técnicas habituales disponibles en la materia. Por ejemplo, la presente invención incluye métodos que comprenden el uso de anticuerpos biespecíficos en donde una brazo de una inmunoglobulina es específico de IL-4Rα o de un fragmento del mismo, y el otro brazo de la inmunoglobulina es específico de una segunda diana terapéutica o está conjugado con una fracción terapéutica. Como formatos biespecíficos ilustrativos desvelados se incluyen, sin limitación, p. ej., formatos biespecíficos basados en scFv o de diacuerpo, fusiones IgG-scFv, dominio variable doble (DVD)-Ig, cuadroma, botones en ojales, cadena ligera común (p. ej., cadena ligera común con "botones en ojales", etc.), CrossMab, CrossFab, (SEED) cuerpo, cremallera de leucina, Duocuerpo, IgG1/IgG2, Fab de acción doble (DAF, *dual acting Fab*)-IgG y formatos biespecíficos de Mab² (véase, p. ej., Klein *et al.* 2012, mAbs 4:6, 1-11, y las referencias citadas en el mismo, para una revisión de los formatos anteriores). Además, pueden construirse anticuerpos biespecíficos utilizando conjugación de péptido/ácido nucleico, p. ej., en donde se utilizan aminoácidos no naturales con reactividad química ortogonal para generar conjugados de anticuerpo y oligonucleótido específicos de sitio que después se autoensamblan en complejos multiméricos con composición, valencia y geometría definidas. (Véase, p. ej., Kazane *et al.*, *J. Am. Chem. Soc. [Epub: 4 de diciembre de 2012]*).

Los anticuerpos pueden ser anticuerpos humanos. La expresión "anticuerpo humano", como se utiliza en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. No obstante, los anticuerpos humanos pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (p. ej., mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio *in vitro* o por mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y, en particular, en la CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se utiliza en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que secuencias de CDR procedentes de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como de un ratón, se hayan injertado en secuencias estructurales humanas.

Los anticuerpos pueden ser anticuerpos humanos recombinantes. La expresión "anticuerpo humano recombinante", como se utiliza en el presente documento, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se preparan, expresados, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante transfectado en una célula hospedadora (que se describe con más detalle más adelante), anticuerpos aislados de una biblioteca combinatoria recombinante de anticuerpos humanos (que se describe con más detalle más adelante), anticuerpos aislados de un animal (p. ej., de un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana (véase, p. ej., Taylor *et al.* (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados mediante cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En determinados casos, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se utiliza un animal transgénico para secuencias de Ig humana, a mutagénesis somática *in vivo*) y, por tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque proceden de secuencias V_H y V_L de la línea germinal humana, y están relacionadas con ella, no pueden existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

De acuerdo con algunos casos, los anticuerpos se unen específicamente a IL-4Rα. La expresión "se une específicamente", o similares, significa que un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. Se conocen bien en la materia métodos para determinar si un anticuerpo se une específicamente a un antígeno e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmón superficial y similares. Por ejemplo, un anticuerpo que "se une específicamente" a IL-4Rα incluye anticuerpos que se unen a IL-4Rα o a una porción del mismo con una K_D inferior a aproximadamente 1000 nM, inferior a aproximadamente 500 nM, inferior a aproximadamente 300 nM, inferior a aproximadamente 200 nM, inferior a aproximadamente 100 nM, inferior a aproximadamente 90 nM, inferior a aproximadamente 80 nM, inferior a aproximadamente 70 nM, inferior a aproximadamente 60 nM, inferior a aproximadamente 50 nM, inferior a aproximadamente 40 nM, inferior a aproximadamente 30 nM, inferior a aproximadamente 20 nM, inferior a aproximadamente 10 nM, inferior a aproximadamente 5 nM, inferior a aproximadamente 1 nM, inferior a

aproximadamente 0,5 nM, inferior a aproximadamente 0,25 nM, inferior a aproximadamente 0,1 nM o inferior a aproximadamente 0,05 nM, medida en un ensayo de resonancia de plasmón superficial. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a IL-4R α humana puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de IL-4R α de otras especies (no humanas).

De acuerdo con algunos casos, un antagonista de IL-4R es un anticuerpo anti-IL-4R α , o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de cadena pesada (HCVR), una región variable de cadena ligera (LCVR) y/o regiones determinantes de la complementariedad (CDR) que comprenden cualquiera de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos anti-IL-4R como se expone en la patente de EE. UU. n.º 7.608.693. El antagonista de IL-4R para su uso en la presente invención es dupilumab. Dupilumab comprende las regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada (HCDR) de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y las regiones determinantes de la complementariedad de cadena ligera (LCDR) de una región variable de cadena ligera (LCVR) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. Dupilumab comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. Dupilumab comprende una HCVR que comprende la SEQ ID NO: 1 y una LCVR que comprende la SEQ ID NO: 2. Dupilumab es un anticuerpo anti-IL-4R que comprende secuencias de aminoácidos HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 de las SEQ ID NO: 3-4-5-6-7-8. Dupilumab comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9. Dupilumab comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. Por lo tanto, dupilumab comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 y es un anticuerpo anti-IL-4R completamente humano. También se hace referencia a los bioequivalentes de dupilumab. El término "bioequivalente", como se utiliza en el presente documento, se refiere a anticuerpos anti-IL-4R o a proteínas de unión a IL-4R o a fragmentos de los mismos, que son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya velocidad y/o grado de absorción no muestran una diferencia significativa con los de dupilumab cuando se administran a la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, bien en una sola dosis o en múltiples dosis. En el contexto de la invención, el término se refiere a proteínas de unión a antígeno que se unen a IL-4R, que no tienen diferencias clínicamente significativas con dupilumab en cuanto a su seguridad, pureza y/o fuerza.

Otros anticuerpos anti-IL-4R α incluyen, p. ej., el anticuerpo denominado y conocido en la técnica como AMG317 (Corren *et al.*, 2010, *Am J Respir Crit Care Med.*, 787(8):788-796), o MEDI 9314 o cualquiera de los anticuerpos anti-IL-4R α como se expone en la patente de EE. UU. n.º 7.186.809, la patente de EE. UU. n.º 7.605.237, la patente de EE. UU. n.º 7.638.606, la patente de EE. UU. n.º 8.092.804, la patente de EE. UU. n.º 8.679.487 o la patente de EE. UU. n.º 8.877.189.

Los anticuerpos anti-IL-4R α pueden tener características de unión dependientes del pH. Por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-4R α puede presentar una unión reducida a IL-4R α a pH ácido en comparación con el pH neutro. Como alternativa, un anticuerpo anti-4R α puede presentar una unión mejorada a su antígeno a un pH ácido en comparación con un pH neutro. La expresión "pH ácido" incluye valores de pH inferiores a aproximadamente 6,2, p. ej., aproximadamente 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 o menor. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "pH neutro" significa un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4. La expresión "pH neutro" incluye valores de pH de aproximadamente 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 y 7,4.

En determinados casos, la "unión reducida a IL-4R α a pH ácido en comparación con pH neutro" se expresa en términos de una proporción del valor de K_D del anticuerpo que se une a IL-4R α a pH ácido con respecto al valor de K_D del anticuerpo que se une a IL-4R α a pH neutro (o viceversa). Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede considerarse que presenta "unión reducida a IL-4R α a pH ácido en comparación con pH neutro" para los fines de la presente invención si el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo presenta una proporción de K_D ácida/neutra de aproximadamente 3,0 o superior. En determinados casos ilustrativos, la proporción de K_D ácida/neutra de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, puede ser de aproximadamente 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 40,0, 50,0, 60,0, 70,0, 100,0 o superior.

Se pueden obtener anticuerpos con características de unión dependientes del pH, p. ej., explorando la unión reducida (o aumentada) de una población de anticuerpos a un antígeno particular a pH ácido en comparación con pH neutro. Adicionalmente, las modificaciones del dominio de unión a antígeno a nivel de aminoácidos pueden producir anticuerpos con características dependientes del pH. Por ejemplo, sustituyendo uno o más aminoácidos de un dominio de unión a antígeno (p. ej., dentro de una CDR) por un resto de histidina, puede obtenerse un anticuerpo con unión a antígeno reducida a un pH ácido en relación con un pH neutro. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "pH ácido" significa un pH de 6,0 o inferior.

Composiciones farmacéuticas

La presente invención incluye dupilumab para su uso en métodos que comprenden administrar dupilumab a un paciente, en donde el dupilumab está contenido dentro de una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan con transportadores, excipientes y otros agentes adecuados que proporcionan una transferencia, un suministro, una tolerancia, y similares, adecuados. En el formulario conocido por todos los químicos farmacéuticos puede encontrarse una multitud de formulaciones apropiadas: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y de agua en aceite, emulsiones de Carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen Carbowax. Véase también Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311.

En la presente invención, dupilumab se proporciona para su uso en un método en donde el método comprende administrar dupilumab a una dosis de aproximadamente 300 mg cada dos semanas.

Se conocen diversos sistemas de suministro y pueden utilizarse para administrar la composición farmacéutica de la invención, p. ej., encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (véase, p. ej., Wu *et al.*, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Los métodos de administración incluyen, pero sin limitación, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y oral. La composición puede administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en embolada, mediante absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (p. ej., mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y puede administrarse junto con otros agentes biológicamente activos.

Una composición farmacéutica de la presente invención puede ser para su uso en donde se suministra por vía subcutánea o intravenosa con una aguja y una jeringa convencionales. Además, con respecto al suministro subcutáneo, un dispositivo de suministro de pluma tiene fácilmente aplicaciones en el suministro de una composición farmacéutica de la presente invención. Dicho dispositivo de suministro de pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo de suministro de pluma reutilizable utiliza generalmente un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez que se ha administrado toda la composición farmacéutica del cartucho y que el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede desecharse fácilmente y sustituirse por un nuevo cartucho que contenga la composición farmacéutica. El dispositivo de suministro de pluma puede reutilizarse después. En un dispositivo de suministro de pluma desechable, no hay cartucho reemplazable. Más bien, el dispositivo de suministro de pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica contenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que el depósito se vacía de la composición farmacéutica, se desecha todo el dispositivo.

Numerosos dispositivos de suministro de pluma y autoinyectores reutilizables tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente invención. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), pluma DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Suiza), pluma HUMALOG MIX 75/25™, pluma HUMALOG™, pluma HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly y Co., Indianápolis, IN), NOVOPEN™ I, II y III (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhague, Dinamarca), pluma BD™ (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ y OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Alemania), por nombrar solo algunos. Los ejemplos de dispositivos de suministro de pluma desechables que tienen aplicaciones en el suministro subcutáneo de una composición farmacéutica de la presente invención incluyen, pero sin limitación, la pluma SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), la FLEXPEN™ (Novo Nordisk) y la KWIKPEN™ (Eli Lilly), el autoinyector SURECLICK™ (Amgen, Thousand Oaks, CA), la PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Alemania), la EPIPEN (Dey, L.P.) y la pluma HUMIRA™ (Abbott Labs, Abbott Park IL), por nombrar solo algunos.

En determinadas situaciones, la composición farmacéutica puede suministrarse en un sistema de liberación controlada. En una realización, puede utilizarse una bomba (véase Langer, citado anteriormente; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). En otra realización, pueden utilizarse materiales poliméricos; véase, Medical Applications of Controlled Release, Langer y Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Ratón, Florida. En otra realización más, cerca de la diana de la composición puede colocarse un sistema de liberación controlada, siendo necesaria, por tanto, solo una fracción de la dosis sistémica (véase, p. ej., Goodson, 1984, en Medical Applications of Controlled Release, citado anteriormente, vol. 2, págs. 115-138). Se analizan otros sistemas de liberación controlada en la revisión de Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas farmacéuticas para inyecciones intravenosa, subcutánea, intracutánea e intramuscular, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse por métodos conocidos. Por ejemplo, las preparaciones inyectables pueden prepararse, p. ej., disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrita anteriormente, en un medio acuoso estéril o en un medio oleoso utilizado convencionalmente para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros coadyuvantes, etc., que pueden utilizarse junto

con un agente de solubilización apropiado, tal como un alcohol (p. ej., etanol), un polialcohol (p. ej., propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [p. ej., polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como medio oleoso, se emplea, p. ej., aceite de sésamo, aceite de soja, etc., que pueden usarse junto con un agente solubilizante, tal como benzoato de bencilo, alcohol bencílico, etc. La inyección preparada de este modo puede cargarse en una ampolla adecuada.

De manera ventajosa, las composiciones farmacéuticas para su uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en formas farmacéuticas en una dosis unitaria adecuada para ajustarse a una dosis de los principios activos. Dichas formas farmacéuticas en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios, etc.

Se desvelan composiciones farmacéuticas ilustrativas que comprenden un anticuerpo anti-IL-4R que pueden usarse en el contexto de la presente invención, p. ej., en la patente de los Estados Unidos N.º 8.945.559.

Dosificación

La cantidad de dupilumab administrada a un sujeto según los métodos de la presente invención es, en general, una cantidad terapéuticamente eficaz. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de dupilumab que da como resultado uno o más de: (a) prevención de alergias; (b) tratamiento o reducción de la gravedad de una reacción alérgica; (c) reducción del nivel de IgE específica de alérgeno en suero; (d) reducción de la sensibilización a los alérgenos; y/o (e) reducción de la susceptibilidad a una reacción alérgica.

La presente invención proporciona dupilumab para su uso en un método para el tratamiento de la alergia en un sujeto, en donde el método comprende:

(a) seleccionar a un sujeto con un nivel elevado de IgE específica de alérgeno en suero, en donde el nivel de IgE específica de alérgeno en suero es $\geq 0,35$ kU/l antes o en el momento del tratamiento, según lo determinado por un inmunoensayo; y

(b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab,

en donde:

(i) el sujeto tiene asma persistente no controlada a pesar del uso de corticoesteroides inhalados junto con agonistas β_2 de acción prolongada (ICS + LABA) en dosis medias a altas; y

(ii) el sujeto también tiene rinitis alérgica perenne (RAP) comórbida; y

(iii) el dupilumab se administra a una dosis de aproximadamente 300 mg cada dos semanas; y

(iv) el alérgeno se selecciona del grupo que consiste en *Aspergillus fumigatus*, caspa de gato, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y cucaracha alemana.

La cantidad de dupilumab contenida en las dosis individuales puede expresarse en términos de miligramos de anticuerpo por kilogramo de peso corporal del paciente (es decir, mg/kg).

Politerapias

El dupilumab para su uso en el método de la presente invención, de acuerdo con algunos casos, puede incluir el método que comprende, administrar al sujeto uno o más agentes terapéuticos adicionales junto con dupilumab. Como se utiliza en el presente documento, la expresión "junto con" significa que los agentes terapéuticos adicionales se administran antes, después o simultáneamente con la composición farmacéutica que comprende el dupilumab. La expresión "junto con" también incluye la administración secuencial o concomitante de dupilumab y de un segundo agente terapéutico.

Por ejemplo, cuando se administra "antes" de la composición farmacéutica que comprende el dupilumab, el agente terapéutico adicional puede administrarse aproximadamente 72 horas, aproximadamente 60 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 15 minutos o aproximadamente 10 minutos antes de la administración de la composición farmacéutica que comprende el dupilumab. Cuando se administra "después" de la composición farmacéutica que comprende el dupilumab, el agente terapéutico adicional puede administrarse aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 15 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas,

aproximadamente 36 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 60 horas o aproximadamente 72 horas después de la administración de la composición farmacéutica que comprende el dupilumab. La administración "concomitante" o con la composición farmacéutica que comprende el dupilumab, significa que el agente terapéutico adicional se administra al sujeto en una forma farmacéutica separada en menos de 5 minutos (antes, después o al mismo tiempo) de la administración de la composición farmacéutica que comprende el dupilumab, o se administra al sujeto como una formulación de dosificación única combinada que comprende tanto el agente terapéutico adicional como el dupilumab.

El agente terapéutico adicional puede ser, p. ej., otro antagonista de IL-4R, un antagonista de IL-1 (incluido, p. ej., un antagonista de IL-1 como se expone en el documento US 6.927.044), un antagonista de IL-6, un antagonista de IL-6R (incluido, p. ej., un anticuerpo anti-IL-6R como se expone en el documento US 7.582.298), un antagonista de IL-13, un antagonista del factor de necrosis tumoral (TNF, *tumor necrosis factor*), un antagonista de IL-8, un antagonista de IL-9, un antagonista de IL-17, un antagonista de IL-5, un antagonista de IgE, un antagonista de CD48, un antagonista de IL-31 (incluido, p. ej., como se expone en el documento US 7.531.637), un antagonista de la linfopoyetina estromal tímica (TSLP, *thymic stromal lymphopoietin*) (incluido, p. ej., como se expone en el documento US 2011/027468), antibióticos de interferón-gamma (IFN γ), corticoesteroides tópicos, tacrolimus, pimecrolimus, ciclosporina, azatioprina, metotrexato, cromolín sódico, inhibidores de proteinasas, corticoesteroides sistémicos, inmunoterapia sistémica, antihistamínicos, o combinaciones de los mismos. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende dupilumab se administra a un sujeto junto con una terapia no farmacéutica tal como terapia con luz ultravioleta (UV).

Pautas terapéuticas de administración

La presente invención proporciona dupilumab para su uso en un método para el tratamiento de la alergia en un sujeto, en donde el método comprende:

(a) seleccionar a un sujeto con un nivel elevado de IgE específica de alérgeno en suero, en donde el nivel de IgE específica de alérgeno en suero es $\geq 0,35$ kU/l antes o en el momento del tratamiento, según lo determinado por un inmunoensayo; y

(b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab,

en donde:

(i) el sujeto tiene asma persistente no controlada a pesar del uso de corticoesteroides inhalados junto con agonistas β_2 de acción prolongada (ICS + LABA) en dosis medias a altas; y

(ii) el sujeto también tiene rinitis alérgica perenne (RAP) comórbida; y

(iii) el dupilumab se administra a una dosis de aproximadamente 300 mg cada dos semanas; y

(iv) el alérgeno se selecciona del grupo que consiste en *Aspergillus fumigatus*, caspa de gato, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y cucaracha alemana.

En un caso, el método comprende además administrar una dosis inicial de dupilumab IL-4R de 600 mg.

Las expresiones "dosis inicial", "dosis secundarias", y "dosis terciarias", se refieren a la secuencia temporal de administración del dupilumab. Por tanto, la "dosis inicial" es la dosis que se administra al comienzo de la pauta terapéutica del tratamiento (también denominada "dosis basal"); las "dosis secundarias" son las dosis que se administran después de la dosis inicial; y las "dosis terciarias" son las dosis que se administran después de las dosis secundarias. Las dosis inicial, secundaria y terciaria, pueden contener todas la misma cantidad de dupilumab, pero generalmente pueden diferir entre sí en términos de frecuencia de administración. En determinadas realizaciones, sin embargo, la cantidad de dupilumab contenida en las dosis inicial, secundaria y/o terciaria varía entre sí (p. ej., ajustada al alza o a la baja según proceda) durante el ciclo del tratamiento. En determinadas realizaciones, una o más (p. ej., 1, 2, 3, 4 o 5) dosis, se administran al comienzo de la pauta terapéutica de tratamiento como "dosis de carga" seguidas de dosis posteriores que se administran con menos frecuencia (p. ej., "dosis de mantenimiento"). Por ejemplo, dupilumab puede administrarse a un paciente con EA a una dosis de carga de aproximadamente 600 mg seguida de una o más dosis de mantenimiento de aproximadamente 300 mg. En algunas realizaciones, la dosis inicial y cada una de la una o más dosis secundarias, contienen la misma cantidad de dupilumab. En otras realizaciones, la dosis inicial comprende una primera cantidad del dupilumab, y cada una de la una o más dosis secundarias comprende una segunda cantidad del dupilumab. Por ejemplo, la primera cantidad del dupilumab puede ser 1,5x, 2x, 2,5x, 3x, 3,5x, 4x o 5x o más que la segunda cantidad del dupilumab.

La expresión "la dosis inmediatamente anterior", como se utiliza en el presente documento, significa, en una secuencia de administraciones múltiples, la dosis de dupilumab que se administra a un paciente antes de la administración de la siguiente dosis de la secuencia sin dosis intermedias.

Los métodos de acuerdo con este aspecto de la invención pueden comprender administrar a un paciente cualquier cantidad de dosis secundarias y/o terciarias de dupilumab. Por ejemplo, al paciente se le administran dos o más (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis secundarias, en donde las dosis secundarias se administran cada dos semanas.

5 Asimismo, en determinadas realizaciones, al paciente se le administra únicamente una sola dosis terciaria. En otras realizaciones, al paciente se le administran dos o más (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más) dosis terciarias.

Las dosis secundarias son de aproximadamente 300 mg y se administran cada dos semanas. En realizaciones que implican múltiples dosis terciarias, cada dosis terciaria puede administrarse con la misma frecuencia que las otras

10 dosis terciarias. Por ejemplo, cada dosis terciaria puede administrarse al paciente de 2 a 4 semanas después de la dosis inmediatamente anterior. Como alternativa, la frecuencia con la que se administran las dosis secundarias y/o terciarias a un paciente puede variar durante el ciclo de la pauta terapéutica del tratamiento. La frecuencia de administración también puede ajustarla un médico durante el ciclo del tratamiento, dependiendo de las necesidades del paciente individual después de la exploración clínica.

15 Ejemplos

Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de proporcionar a los expertos familiarizados con la materia, una divulgación y descripción completa de cómo preparar y utilizar los métodos y las composiciones de la invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se han realizado intentos para garantizar la exactitud con respecto a las cifras utilizadas (p. ej., cantidades, temperatura, etc.) pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica.

25 Ejemplo de referencia 1: Ensayo clínico que investiga la eficacia de dupilumab en pacientes adultos con DA de moderada a grave

30 Diseño y objetivos del estudio

Se trataba de un estudio aleatorizado de 32 semanas de duración, con doble ocultación, controlado con placebo y de grupos paralelos, para evaluar la seguridad, la eficacia, el perfil de biomarcadores, las concentraciones funcionales y la inmunogenicidad de dupilumab administrado semanalmente durante 16 semanas consecutivas a pacientes adultos con DA (dermatitis atópica) de moderada a grave. Dupilumab es un anticuerpo anti-IL-4R completamente humano que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR que comprenden las SEQ ID NO: 1/2; y secuencias CDR de cadena pesada y ligera que comprenden las SEQ ID NO: 3-8.

Los pacientes admisibles se asignaron al azar en una proporción de 1:1 para recibir dupilumab subcutáneo (SC) o placebo SC. La asignación al azar se estratificó según la gravedad de la enfermedad (DA moderada frente a grave). Después de dar su consentimiento informado, los pacientes se evaluaron en la visita de exploración para determinar su admisibilidad en el estudio. Los pacientes que cumplieron los criterios de admisibilidad se sometieron a evaluaciones el día 1/iniciales, se asignaron al azar y recibieron una dosis de carga (400 mg SC del fármaco del estudio) con inyecciones semanales posteriores del fármaco del estudio (200 mg SC) desde la semana 1 hasta la semana 15. Durante este tiempo, los pacientes se sometieron a evaluaciones semanales, la mayoría a través de visitas asistenciales, pero algunos a través del contacto telefónico. Dependiendo de las preferencias y capacidades del paciente, los pacientes y/o cuidadores recibieron formación en el centro del estudio sobre cómo inyectar el fármaco del estudio en las 5 primeras visitas de tratamiento (visitas 2, 3, 4, 5 y 6) y posteriormente el fármaco del estudio se administró fuera del consultorio en las visitas 7, 9, 11, 13 y 15, lo que sólo requería un contacto telefónico. Se realizaron evaluaciones de seguridad, analíticas y de los efectos clínicos en visitas asistenciales específicas. La visita al final del período de tratamiento tuvo lugar en la semana 16 después de la última dosis del fármaco del estudio, cuando se evaluó el criterio de valoración principal. Las visitas de seguimiento se realizaron cada 2 semanas desde la semana 18 hasta la semana 32. La visita de fin del estudio tuvo lugar la semana 32.

Se proporcionó a los pacientes tratamiento de rescate para la EA (medicación y/o fototerapia), si fuera necesario. A los pacientes que necesitaron tratamiento de rescate se les suspendió el tratamiento del estudio, pero continuaron siguiendo el programa de evaluaciones del estudio. Las mediciones de eficacia (p. ej., IGA (*Investigator's Global Assessment*, evaluación global del investigador), EASI, etc.) se obtuvieron antes de administrar cualquier tratamiento de rescate.

En diversos momentos durante el estudio, se recogieron muestras para determinar la bioquímica y hematología clínicas, la concentración del fármaco y los anticuerpos antifármaco. Además, se recogieron 1 muestra para el análisis de ADN y múltiples muestras para el análisis de ARN.

La asignación al tratamiento se realizó de forma aleatoria, para evitar la predisposición en la asignación de los

pacientes a un grupo de tratamiento particular y minimizar las diferencias sistemáticas entre los grupos de tratamiento con respecto a las variables iniciales que podrían afectar al resultado. El diseño con doble ocultación tenía como objetivo minimizar cualquier posible sesgo de las evaluaciones clínicas y los resultados comunicados por los pacientes como resultado del conocimiento del investigador o del paciente sobre la asignación del tratamiento. El grupo que recibió placebo proporcionó una referencia fiable de cualquier efecto aparente del tratamiento del estudio. Los pacientes asignados al grupo tratado con dupilumab recibieron 200 mg una vez a la semana (1vs) después de una dosis de carga de 400 mg el día 1. El tratamiento del estudio se administró durante 16 semanas para estabilizar las concentraciones sistémicas de dupilumab funcional. Después del tratamiento, durante 16 semanas (es decir, aproximadamente 5 semividas) se realizó un seguimiento de todos los pacientes para garantizar que la eliminación de dupilumab fuese prácticamente completa (concentraciones plasmáticas por debajo del límite inferior de cuantificación) antes de la visita de fin del estudio.

El objetivo principal del estudio era evaluar la eficacia de dupilumab, en comparación con el placebo, en pacientes adultos con DA de moderada a grave.

Los objetivos secundarios del estudio eran: (1) evaluar la seguridad de dupilumab, en comparación con el placebo; (2) evaluar la concentración de dupilumab; y (3) evaluar la posible respuesta del anticuerpo anti-fármaco al dupilumab, en comparación con el placebo, en pacientes adultos con DA de moderada a grave.

Los objetivos exploratorios fueron: (1) evaluar el efecto de dupilumab sobre la hiperplasia epidérmica; (2) evaluar el efecto farmacodinámico (FD) de dupilumab sobre los biomarcadores a lo largo del tiempo; y (3) evaluar el valor predictivo de la citocina regulada y activada del timo (TARC) sobre la respuesta del EASI.

La población diana incluía adultos con DA de moderada a grave que no estaba adecuadamente controlada con medicamentos tópicos o donde el tratamiento tópico era desaconsejable (debido a, p. ej., efectos secundarios o riesgos de seguridad). Los pacientes admisibles se asignaron al azar en una proporción de 1:1 para recibir dupilumab subcutáneo (SC) o placebo SC. La asignación al azar se estratificó según la gravedad de la enfermedad (DA moderada frente a grave). Los pacientes recibieron una dosis de carga (400 mg SC) del fármaco del estudio el día 1, seguido de inyecciones semanales del fármaco del estudio (200 mg SC) desde la semana 1 hasta la semana 15. Los pacientes debían aplicarse un emoliente tópico dos veces al día desde el día -7 hasta el día 8. Se realizaron evaluaciones de seguridad, analíticas y de los efectos clínicos en visitas asistenciales específicas. En diversos momentos a lo largo del estudio, se recogieron muestras para determinar la bioquímica y hematología clínicas, la concentración del fármaco y los anticuerpos antifármaco. Además, se recogieron 1 muestra para el análisis de ADN y múltiples muestras para el análisis de ARN. La visita al final del período de tratamiento tuvo lugar en la semana 16, 1 semana después de la última dosis del fármaco del estudio, cuando se evaluó el criterio de valoración principal. Las visitas de seguimiento se realizaron cada 2 semanas desde la semana 18 hasta la semana 32. La visita de fin del estudio tuvo lugar la semana 32.

En el estudio, el criterio de valoración principal fue el cambio porcentual en la puntuación del EASI desde el inicio hasta la semana 16. Los criterios de valoración secundarios incluyen: (1) proporción de pacientes que alcanzaron una IGA 0 (normal) o 1 (casi normal) en la semana 16; (2) proporción de pacientes que lograron una reducción de la puntuación IGA de ≥ 2 en la semana 16; (3) cambio absoluto y porcentual desde el inicio en las puntuaciones de prurito (NRS y escala categórica de 4 puntos); (4) cambio absoluto en las puntuaciones del EASI desde el inicio hasta la semana 16; (5) cambio absoluto y porcentual en las puntuaciones SCORAD (*SCORing Atopic Dermatitis*) desde el inicio hasta la semana 16; (6) proporción de pacientes que alcanzaron un EASI-50, un EASI-75 y un EASI-90 (reducción del 50, 75 y 90 % con respecto al valor inicial en la puntuación EASI) en la semana 16; (7) proporción de pacientes que alcanzaron un SCORAD-50, un SCORAD-75 y un SCORAD-90 (reducción del 50, 75 y 90 % con respecto al valor inicial en la puntuación SCORAD) en la semana 16; (8) cambio absoluto y porcentual desde el inicio en las puntuaciones de la POEM (*Patient Oriented Eczema Measure*, medida de eccema orientada al paciente); (9) cambios desde el inicio en los componentes de la GISS (*Global Individual Sign Score*, puntuación global de los signos individuales) (eritema, infiltración/población, excoriaciones y liquenización); (10) cambios desde el inicio en la puntuación acumulativa de la GISS; (11) incidencia de los AART (acontecimientos adversos relacionados con el tratamiento) desde el inicio hasta la semana 32; y (12) concentraciones séricas de dupilumab a lo largo del tiempo desde el inicio hasta la semana 32.

Los criterios de valoración exploratorios incluyen: (1) la proporción de pacientes con una respuesta histológica que consiste en una hiperplasia epidérmica significativamente disminuida en piel con lesiones y definida como una reducción ≥ 40 % desde el valor inicial en el grosor epidérmico y/o reversión de la expresión de K16 mediante inmunohistoquímica; (2) cambio en la TARC desde el inicio hasta la semana 16; (3) cambio en la IgE desde el inicio hasta la semana 16; (4) cambio en la IgE específica de alérgeno hasta la semana 16; y (5) correlación de la TARC e IgE iniciales sobre la respuesta del EASI.

Selección de pacientes

La población diana incluía adultos con DA de moderada a grave que no estaba adecuadamente controlada con medicamentos tópicos o para quienes los tratamientos tópicos no eran de otro modo aconsejables (debido a, p. ej., efectos secundarios o riesgos de seguridad).

Criterios de inclusión: Para que un paciente fuese admisible con respecto a su inclusión en el estudio, debía cumplir los siguientes criterios: (1) ser un hombre o una mujer, tener 18 años o más; (2) padecer DA crónica, que haya estado presente durante al menos 3 años antes de la visita de exploración; (3) tener una puntuación EASI ≥ 12 en la visita de exploración y ≥ 16 en la visita inicial; (4) tener una puntuación IGA ≥ 3 (en la escala IGA de 0 a 4) en las visitas de exploración e inicial; (5) tener una SC (superficie corporal) con una afectación de DA $\geq 10\%$ en las visitas de exploración e inicial; (6) pacientes con antecedentes recientes documentados (en los 6 meses anteriores a la visita de exploración) de respuesta inadecuada al tratamiento ambulatorio con medicamentos tópicos o para quienes los tratamientos tópicos no eran de otro modo aconsejables (debido a, p. ej., efectos secundarios o riesgos de seguridad importantes) [Para el propósito de este protocolo, la respuesta inadecuada representó fracaso para lograr y/o mantener la remisión o un estado de baja actividad de la enfermedad (p. ej., IGA 0 = normal a 2 = leve) a pesar del tratamiento con corticoesteroides tópicos de fuerza media a alta (\pm inhibidores tópicos de la calcineurina, según corresponda). Para evaluar la inadecuación de la respuesta al tratamiento intensivo, el tratamiento tópico se aplicó diariamente durante al menos 28 días o durante el tiempo máximo recomendado por la información de prescripción del producto (p. ej., 14 días para corticoesteroides tópicos muy fuertes), lo que fuera más corto. Después de un tratamiento diario intensivo, la respuesta inadecuada se determinó en función de la imposibilidad de mantener un estado de baja actividad de la enfermedad a pesar de las aplicaciones de medicamentos tópicos en un programa de mantenimiento menos intensivo (es decir, 2 días por semana). Los efectos secundarios o riesgos de seguridad importantes que superaron los posibles beneficios del tratamiento (p. ej., reacciones hipersensibles, atrofia significativa de la piel, efectos sistémicos, etc., o inminencia de los mismos), se evaluaron por parte del investigador o del médico tratante del paciente. La documentación aceptable incluía notas clínicas contemporáneas de historias clínicas que registraban la prescripción de corticoesteroides tópicos y/o inhibidores tópicos de la calcineurina y el resultado del tratamiento, la documentación del investigador basada en la comunicación con el médico tratante del paciente, o el historial médico proporcionado por el paciente en caso de que otras formas de documentación no estuvieran disponibles (p. ej., el paciente no había acudido a un médico por DA en los últimos 6 meses)]; (7) los pacientes deben haberse aplicado una dosis estable de emoliente tópico (crema hidratante) dos veces al día durante al menos 7 días antes de la visita inicial; (8) estar dispuesto y ser capaz de cumplir con todas las visitas asistenciales y procedimientos relacionados con el estudio; (9) ser capaz de comprender y cumplimentar los cuestionarios relacionados con el estudio; y (10) dar su consentimiento informado firmado.

Criterios de exclusión: Los siguientes criterios son los criterios de exclusión para la población de estudio: (1) participación previa en un ensayo clínico con dupilumab; (2) tratamiento con un fármaco en fase de investigación en las 8 semanas o en las 5 semividas (si se conocen), lo que fuera más largo, antes de la visita inicial; (3) los siguientes tratamientos en las 4 semanas anteriores a la visita inicial, o cualquier afección que, en opinión del investigador, requeriría dicho(s) tratamiento(s) durante las 4 primeras semanas del tratamiento del estudio - corticoesteroides sistémicos, fármacos inmunosupresores/inmunomoduladores (p. ej., ciclosporina, micofenolato de mofetilo, IFN γ , Inhibidores de Janus cinasa (JAK), azatioprina o metotrexato) o fototerapia para la DA; (4) tratamiento con corticoesteroides tópicos, tacrolimus y/o pimecrolimus en la semana anterior a la visita inicial; (5) tratamiento con los siguientes productos biológicos: cualquier agente citorreductor, incluido, pero sin limitación, rituximab: en los 6 meses anteriores a la visita inicial, o hasta que el recuento de linfocitos y linfocitos CD 19+ vuelva a la normalidad, lo que fuera más largo; infliximab, adalimumab, golimumab, certolizumab pegol, abatacept, etanercept, anakinra: en las 16 semanas anteriores a la visita inicial para cualquier indicación, o en los 5 años para indicaciones dermatológicas, otros productos biológicos: en 5 semividas (si se conocen) o 16 semanas, lo que fuera más largo, antes de la visita inicial; (6) inicio del tratamiento de la DA con cremas hidratantes recetadas o cremas hidratantes que contengan aditivos tales como ceramida, ácido hialurónico, urea, orfilagrina durante el período de exploración (los pacientes podrían continuar usando dosis estables de dichas cremas hidratantes si se inician antes de la visita de exploración); (7) uso regular (más de 2 visitas por semana) de una cabina/salón de bronceado en las 4 semanas anteriores a la visita de exploración; (8) uso planificado o anticipado de cualquier medicamento y procedimiento prohibidos durante el tratamiento del estudio; (9) tratamiento con una vacuna viva (atenuada) 12 semanas antes de la visita inicial; (10) infección crónica o de corta duración que necesite tratamiento con antibióticos sistémicos, antivíricos, antiparasitarios, antiprotazoarios o antifúngicos 4 semanas antes de la visita de exploración o infecciones superficiales de la piel 1 semana antes de la visita de exploración; (11) inmunosupresión conocida o sospechada, incluidos antecedentes de infecciones oportunistas invasivas (p. ej., tuberculosis, histoplasmosis, listeriosis, coccidioidomicosis, neumocistosis y aspergilosis) a pesar de la resolución de la infección, o infecciones recurrentes de frecuencia anómala o infecciones prolongadas que sugieran un estado inmunitario comprometido; (12) antecedentes conocidos de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o seropositividad al VIH en la visita de exploración; (13) antígeno de superficie del virus de la hepatitis B positivo o indeterminado, anticuerpo central del virus de la hepatitis B (HBcAb, *hepatitis B core antibody*) o anticuerpo del virus de la hepatitis C en la visita de exploración; (14) transaminasas (ALT y/o AST) elevadas, más de 3 veces el límite superior de la normalidad ($>3 \times \text{ULN}$ (*upper limit of normal*)) en la visita de exploración; (15) antecedentes de endoparasitosis clínica 12 meses antes de la visita inicial, tricomoniasis vaginal distinta a la tratada; (16) presencia de comorbilidades cutáneas que podrían interferir con las evaluaciones del estudio; (17) antecedentes de neoplasia maligna 5 años antes a la visita inicial, excepto carcinoma de cuello uterino *in situ* completamente tratado y el carcinoma basocelular o epidermoide no metastásico de la piel completamente tratado y resuelto; (18) antecedentes de trastornos linfoproliferativos no malignos; (19) alto riesgo de infección parasitaria, tal como residencia o viajes recientes (12 meses anteriores a la visita inicial) a zonas endémicas de endoparasitosis, cuando las circunstancias eran compatibles con la exposición al parásito (p. ej., estancia prolongada, zonas rurales o

barrios marginales, falta de agua corriente, consumo de alimentos crudos, alimentos poco cocidos o posiblemente contaminados de otro modo, estrecho contacto con portadores y vectores, etc.), a menos que evaluaciones médicas posteriores (p. ej., examen de heces, análisis de sangre, etc.) descarten la posibilidad de infección/infestación parasitaria; (20) antecedentes de abuso de alcohol o drogas en los 2 años anteriores a la visita de exploración; (21) enfermedad(es) concomitante(s) grave(s) que, afectaría(n) negativamente a la participación del paciente en el estudio. Como ejemplos se incluyen, pero sin limitación, pacientes con una esperanza de vida corta, pacientes con diabetes no controlada ($HbA1c \geq 9\%$), pacientes con afecciones cardiovasculares (p. ej., insuficiencia cardíaca en estadio III o IV según la clasificación de la *New York Heart Association* (Asociación Estadounidense de Cardiología), afecciones renales graves (p. ej., pacientes en diálisis) afecciones hepatobiliares (p. ej., clase B o C de Child-Pugh), afecciones neurológicas (p. ej., enfermedades desmielinizantes), enfermedades autoinmunitarias importantes activas (p. ej., lupus, enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reumatoide, etc.), otras enfermedades endocrinas, gastrointestinales, metabólicas, pulmonares o linfáticas graves; (22) cualquier otra afección médica o psicológica, incluidas anomalías de laboratorio relevantes en la exploración, que sugieran una enfermedad nueva y/o insuficientemente comprendida, que pueda presentar un riesgo irrazonable para el paciente del estudio como resultado de su participación en este ensayo clínico, que pueda hacer que la participación del paciente no sea fiable o pueda interferir con las evaluaciones del estudio. Esto incluyó hipersensibilidad a los anestésicos locales, trastornos hemorrágicos, tratamiento con anticoagulantes u otras afecciones que puedan desaconsejar el procedimiento de biopsia; (23) procedimiento quirúrgico importante planificado durante la participación del paciente en este estudio; (24) mujeres gestantes o en período de lactancia materna, o mujeres que planean quedarse embarazadas o amamantar durante el estudio; y (25) mujeres que no estén dispuestas a utilizar métodos anticonceptivos adecuados, si tienen potencial reproductivo y son sexualmente activas.

Tratamientos del estudio

Los pacientes recibieron una dosis de carga subcutánea de 400 mg de dupilumab el día 1 seguida de 200 mg semanales (1vs) desde la semana 1 hasta la semana 15. Los pacientes con placebo recibieron una dosis de carga el día 1 seguida de una dosis subcutánea semanal de placebo desde la semana 1 hasta la semana 15. Los pacientes debían aplicarse un emoliente tópico dos veces al día desde el día -7 hasta el día 8.

Procedimientos y evaluaciones

La eficacia de dupilumab en esta población se evaluó mediante puntuaciones de gravedad de la enfermedad de DA, cuestionarios de calidad de vida (CV), evaluaciones de prurito y resultados informados por los pacientes. Las puntuaciones de gravedad de la DA incluyeron parámetros clínicos asociados a la DA, tales como el índice de gravedad y área del eccema (EASI), evaluación global del investigador (IGA), escala de calificación numérica (NRS) del prurito, Superficie corporal (SC), escala 5-D del prurito, puntuación de la dermatitis atópica (SCORAD), medida de eccema orientada al paciente (POEM) y puntuación global de los signos individuales (GISS), que se describen en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US2014/0072583. Los cuestionarios de calidad de vida (CV) incluyeron evaluación global del estado de la enfermedad del paciente, índice de calidad de vida en dermatología (ICVD), POEM, EQ-5D, CV relacionada con el picor y Escala de Ansiedad y Depresión Hospitalaria (EADH), descritos en el documento US2014/0072583. También se recogieron pruebas de la función de la barrera cutánea, fotografías de la zona de DA y muestras de frotis cutáneos para análisis exploratorios del microbioma. La seguridad de dupilumab en esta población se valoró evaluando los AART, el historial médico detallado, la exploración física completa, las constantes vitales, electrocardiograma (ECG) y pruebas de laboratorio clínico. Los medicamentos y procedimientos concomitantes se recogieron desde el momento del consentimiento informado hasta el final del estudio. Los datos de seguridad ocultos se revisaron de forma continua. Se recogieron muestras de sangre para determinar la concentración del fármaco y los niveles de anticuerpos anti-dupilumab en momentos predeterminados. Se recogieron muestras para la investigación y muestras para el análisis exploratorio de biomarcadores. También se recogieron muestras de biopsia de piel para el análisis exploratorio de biomarcadores.

Análisis estadísticos

Las variables continuas primarias y secundarias se analizaron utilizando un modelo de análisis de covarianza (ANCOVA) con estratos de tratamiento y asignación al azar (moderada frente a grave) y valores iniciales de criterios de valoración relevantes como covariables. Los datos de eficacia se establecieron como ausentes después de que se utilizase la medicación de rescate o después de que el paciente interrumpiera el estudio. Después, todos los valores ausentes se imputaron utilizando el método de imputación de la última observación realizada (LOCF, *last observation carried forward*). El EASI y la NRS del prurito se comunicaron como cambios porcentuales medios de mínimos cuadrados (LS, *least squares*) (error estándar [EE]) desde el inicio a la semana 16, obtenidos a partir de enfoque de LOCF.

Resultados

Disposición del paciente y características iniciales: Cincuenta y cuatro (54) pacientes se asignaron al azar a placebo (n = 27) o a dupilumab 200 mg 1vs (n = 27). Las características demográficas y clínicas iniciales estuvieron equilibradas entre los grupos de tratamiento (Tabla 1). Más del 75 % de los pacientes habían utilizado medicación

previa, incluidos antihistamínicos, corticoesteroides tópicos (de los grupos I, II y III, por fuerza), y fármacos para enfermedades obstructivas de las vías respiratorias. Una mayor proporción de pacientes que recibió placebo utilizó corticoesteroides en comparación con la de los pacientes que recibió dupilumab.

5 **Tabla 1: Datos demográficos y características clínicas iniciales del paciente por grupo de tratamiento**

Variable	Placebo (n = 27)	Dupilumab 200 mg (N = 27)
Edad, mediana (IQR), años	43 (20, 82)	35 (18, 71)
Sexo masculino, n (%)	14 (51,9)	16 (59,3)
duración de la DA, media \pm DE, años	35,4 \pm 16,3	26,3 \pm 17,21
SC, media \pm DE, %	54,5 \pm 26,91	53,8 \pm 29,72
Puntuación EASI (0-72), media \pm DE	34,2 \pm 14,59	33,4 \pm 15,41
Puntuación SCORAD total (0-103), media \pm DE	65,1 \pm 13,36	64,2 \pm 17,67
Puntuación máxima de la NRS del prurito (0-10), media \pm DE	7,4 \pm 2,04	7,1 \pm 2,42
Puntuación IGA (0-4), n (%)		
Puntuación = 3 (moderada)	13 (48,1)	14 (51,9)
Puntuación = 4 (grave)	14 (51,9)	13 (48,1)

Eficacia: El tratamiento con dupilumab mejoró (redujo) significativamente las puntuaciones EASI desde el inicio hasta la semana 16 en comparación con el placebo (SE): -75,2 % (8,15) frente a -5,8 % (8,16); $P < 0,0001$ (Figura 1). La NRS máxima del prurito también se redujo significativamente desde el inicio hasta la semana 16 con el tratamiento de dupilumab en comparación con el placebo (SE): -51,5 % (10,2) frente a -6,3 % (10,0); $P = 0,0027$ (Figura 2). Una mayor proporción de pacientes del grupo de dupilumab [14/27 (51,9 %)] lograron una reducción en IGA de ≥ 2 puntos en la semana 16, en comparación con el grupo de placebo [1/27 (3,7 %)]. El 37 % de los pacientes del grupo con dupilumab alcanzó una puntuación de 0 (normal) o 1 (casi normal) por semana, en comparación con ningún paciente en el grupo de placebo. Las proporciones de pacientes que lograron una reducción en su puntuación EASI en la semana 16 fueron sistemáticamente mayores en el grupo de dupilumab, que en el grupo de placebo, como lo demuestran las proporciones de pacientes con un EASI-50 (21/27 [77,8 %] para dupilumab frente a 6/27 [22,2 %] para placebo, $p < 0,0001$), un EASI-75 (18/27 [66,7 %] para dupilumab frente a 4/27 [14,8 %] para placebo, $p = 0,0001$) y un EASI-90 (9/27 [33,3 %] para dupilumab frente a 0/27 [0 %] para placebo, $p = 0,0011$). El cambio porcentual medio de LS (\pm EE) en la puntuación SCORAD desde el inicio hasta la semana 16 fue congruente con el cambio en la media absoluta SCORAD (-54,8 \pm 5,40 % de dupilumab frente a -8,2 \pm 5,41 %, $p < 0,0001$). Se observó que las proporciones de pacientes que lograron una reducción SCORAD del 50 % (SCORAD-50) en la semana 16 eran mayores en el grupo de dupilumab que en el grupo de placebo (15/27 [55,6 %] para dupilumab frente a 2/27 [7,4 %] para placebo, $p = 0,0002$). El grupo de dupilumab mostró una disminución porcentual media de LS (\pm EE) desde el inicio en la afectación de la SC desde el inicio hasta la semana 16 de -69,0 \pm 12,61 %, mientras que el grupo de placebo mostró un aumento de 13,6 \pm 12,61 %.

Seguridad: Dupilumab fue seguro y bien tolerado y tuvo un perfil de seguridad aceptable. 23/27 (85,2 %) pacientes del grupo de dupilumab y 24/27 (88,9 %) pacientes del grupo de placebo tuvieron al menos 1 AART. Se notificaron AART graves en 3/27 (11,1 %) pacientes del grupo de placebo y ninguno en el grupo de dupilumab. La mayoría de los AART fueron de gravedad leve o moderada. Los AART comunes (según el término preferente del diccionario médico para actividades de registro farmacéutico [MedDRA, *Medical Dictionary for Regulatory Activities*]) incluyeron nasofaringitis (dupilumab: 3/27 [11,1 %] de pacientes; placebo: 5/27 [18,5 %] de pacientes), infección de las vías respiratorias altas (4/27 [14,8 %] y 4/27 [14,8 %], respectivamente), infección vírica de las vías respiratorias altas (3/27 [11,1 %] y 2/27 [7,4 %], respectivamente) y reacciones en el lugar de la inyección (según el término del nivel alto del MedDRA; 5/27 [18,5 %] y 1/27 [3,7 %], respectivamente).

Ejemplo de referencia 2: Análisis de biomarcadores

A. Estudio A

En el estudio "A", los biomarcadores séricos se midieron en muestras de un ensayo clínico en el que participaron sujetos con dermatitis atópica (DA) de moderada a grave. Los sujetos con DA recibieron una administración de 16 dosis semanales de dupilumab (200 mg) o placebo; los pacientes con dupilumab recibieron una dosis de carga de 400 mg el día 1. Los biomarcadores séricos asociados a la DA, tales como quimiocina regulada y activada del timo (TARC), quimiocina pulmonar y regulada por actividad (PARC), periostina, lactato deshidrogenasa (LDH), eosinófilos, IgE total e IgE específica de antígeno, se describen en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US2014/0072583.

Los biomarcadores séricos se midieron en varios momentos entre la exploración y la semana 32 e incluyeron: TARC en suero (kit de ELISA Quantikine CCL17/TARC humana; R&D Systems, Minneapolis, MN, EE. UU.) y periostina (placa DuoSet 15 para periostina/OSF-2 humana; R&D Systems). La IgE total y las IgE específicas de alérgeno en suero se midieron mediante el ensayo ImmunoCap (inmunoensayo enzimático fluorescente ImmunoCAP®; Thermo Scientific, Uppsala, Suecia). Se establecieron paneles de IgE específicas de alérgeno para los aeroalérgenos comunes de la región, junto con las IgE de enterotoxina A y B de *S. aureus*. Para la IgE específica de alérgeno, el límite inferior de

cuantificación fue de 0,10 kU/l; se consideró que un nivel $\geq 0,35$ kU/l era una prueba de sensibilización al alérgeno.

Las variables exploratorias, los biomarcadores séricos TARC, PARC, periostina e IgE total, se representaron como cambios porcentuales medios (EE) desde el inicio; la abundancia de las IgE específicas de antígeno se informó como mediana de cambio porcentual (intervalo intercuartílico [IQR, *interquartile range*]) desde el inicio. Los datos se establecieron como ausentes después de la medicación de rescate. Las variables no se ajustaron por multiplicidad y, por tanto, se proporcionan valores de p (probabilidad) nominales.

Tabla 2: Puntuaciones iniciales de biomarcadores

Variable	Placebo (n = 27)	Dupilumab 200 mg (N = 27)
TARC sérica, media (DE), pg/ml	11360 (24670)	7722 (13590)
PARC sérica, media (DE), ng/ml	206 (188)	168 (127)
periostina sérica, media (DE), ng/ml	147 (100)	154 (117)
IgE total sérica, media (DE), UI/ml	5641 (4706)	3868 (4248)

TARC, quimiocina regulada y activada del timo (TARC); DE, desviación estándar; PARC, quimiocina regulada y activada del pulmón

La Tabla 2 muestra las puntuaciones iniciales de los biomarcadores en ambos grupos de tratamiento. Se observaron descensos rápidos y significativos de TARC, PARC y periostina séricos (Figuras 3-5) con el tratamiento de dupilumab en comparación con el de placebo. Los niveles séricos de IgE total disminuyeron constantemente durante el período de tratamiento, demostrando una reducción significativa en la semana 16 en el grupo de dupilumab en comparación con placebo (Figura 6).

Se observaron disminuciones medias y medianas de las IgE específicas de antígeno desde el inicio, desde la semana 1 hasta el final del estudio (semana 32) para las IgE provocadas contra todos los paneles de alérgenos probados, que comprendían aliso gris, *Alternaria tenuis*, pasto Bermuda, abedul plateado, caspa de gato, *Cladosporium*, cucaracha (alemana), *Dermatophagoides farinae* (ácaro), caspa de perro, olmo, pasto Johnson, roble blanco, ambrosía pequeña, artemisa salvia, hierba timotea (*Phleum*), fresno blanco, enterotoxina estafilocócica A y enterotoxina estafilocócica B. Dupilumab suprimió significativamente una gran variedad de IgE séricas específicas de alérgeno en comparación con el placebo (Figura 7; mediana inicial (IQR) y mediana de cambio porcentual (IQR) desde el inicio hasta la semana 16).

B. Estudio B

En el "estudio B", los biomarcadores séricos se midieron en muestras de un ensayo clínico en el que participaron sujetos con DA de moderada a grave. Los sujetos con DA se asignaron al azar en una proporción de 1:1:1:1:1 para recibir 16 semanas de tratamiento con placebo subcutáneo semanalmente; o dupilumab 100 mg cada 4 semanas (c4s), 300 mg c4s, 200 mg cada 2 semanas (c2s), 300 mg c2s o 300 mg semanalmente (1vs). Los pacientes de los grupos de dosis de 300 mg recibieron una dosis de carga de 600 mg, mientras que los pacientes de los grupos de dosis de 200 y 100 mg recibieron 400 mg el día 1. Al período de tratamiento de 16 semanas le siguió un seguimiento de seguridad de 16 semanas (período total de estudio de 32 semanas). Los biomarcadores séricos asociados a la DA, tales como quimiocina regulada y activada del timo (TARC), quimiocina pulmonar y regulada por actividad (PARC), periostina, lactato deshidrogenasa, eosinófilos, IgE total e IgE específica de antígeno, se describen en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US2014/0072583.

Los biomarcadores séricos que se midieron en varios momentos entre la exploración y la semana 32 incluyeron: Niveles séricos de TARC (kit de ELISA Quantikine CCL17/TARC humana; R&D Systems, Minneapolis, MN, EE.UU.), Periostina sérica (placa DuoSet 15 para periostina/OSF-2 humana; R&D Systems); LDH (Analizadores Roche Modular y Cobas (Roche Diagnostics, Indianápolis, IN, EE.UU.); recuentos de eosinófilos determinados como parte del recuento diferencial de células; e IgE total e IgE específicas de antígeno en suero (medidas mediante el ensayo ImmunoCap (inmunoensayo enzimático fluorescente ImmunoCAP®; Thermo Scientific, Phadia AB, Uppsala, Suecia).

Para la IgE específica de alérgeno, el límite inferior de cuantificación LLQ (*lower limit of quantitation*) fue 0,10 kU/l; se consideró que un nivel $\geq 0,35$ kU/l era una prueba de sensibilización al alérgeno.

Los cambios porcentuales medios de los biomarcadores séricos TARC, periostina y LDH, y los cambios porcentuales de la mediana de la IgE total y de la IgE específica de alérgeno, se compararon en la semana 16 para cada una de las pautas terapéuticas de dosificación de dupilumab frente a placebo utilizando un análisis de covarianza con el valor inicial como covariable.

Se observaron reducciones desde el inicio hasta la semana 16 con dupilumab frente a placebo en múltiples IgE específicas de antígeno en suero, incluyendo las específicas para las endotoxinas de *S. aureus* (Figuras 8 y 9).

Ejemplo de referencia 3: Colonización cutánea por *Staphylococcus aureus*

El análisis de la colonización microbiana cutánea se realizó en muestras tomadas de sujetos que participaron en un

ensayo clínico de dupilumab. Los sujetos con dermatitis atópica (DA) de moderada a grave recibieron una administración de 16 dosis semanales de dupilumab (200 mg) o placebo; los pacientes con dupilumab recibieron una dosis de carga de 400 mg el día 1. La colonización y la infección por *S. aureus* se determinaron en piel con DA con lesiones y sin lesiones entre la exploración y la semana 32. Se recogieron raspados de piel con hisopo (prehumedecidos con tampón Tris-EDTA) de zonas de piel previamente medidas (~10 cm x 10 cm) y se analizaron para detectar la presencia de *S. aureus*. Las células bacterianas contenidas en el hisopo se sometieron a lisis y se purificó el ADN genómico total. La abundancia de ADN de femA específico de *S. aureus* del ADN genómico bacteriano total, se determinó mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR, *quantitative real-time PCR*). Las unidades formadoras de colonias relativas (UFCr) de *S. aureus* se determinaron utilizando una curva estándar generada con ADN genómico de UFC conocidas de *S. aureus*. La abundancia de *S. aureus* se informó como mediana de cambio porcentual (intervalo intercuartílico [IQR]) desde el inicio. Los datos se establecieron como ausentes después de la medicación de rescate. Las variables no se ajustaron por multiplicidad y, por tanto, se proporcionan valores de *p* (probabilidad) nominales.

Dupilumab redujo significativamente la abundancia de *S. aureus* en piel con DA con lesiones (mediana de cambio porcentual desde el inicio hasta la semana 16 en comparación con placebo) [$P = 0,0125$; Tabla 3], y se observó una reducción media global desde el inicio en la semana 16 en la mediana *S. aureus* abundancia en comparación con el placebo (Figura 10).

Tabla 3: Abundancia de *S. aureus* en piel con DA con lesiones y sin lesiones después de 16 semanas de tratamiento

	Placebo 1vs (n = 27)		Dupilumab 200 mg 1vs (n = 27)	
	Mediana inicial	Mediana de cambio porcentual	Mediana inicial	Mediana de cambio porcentual
	(C1,C3), UFCr/área	(C1,C3), UFCr/área	(C1,C3), UFCr/área	(C1,C3), UFCr/área
Piel con DA con lesiones	1289 (239,0, 16149,0)	-49 (-87,7, 635,8)	1630 (287,3, 15442,5)	-99 (-99,9, -94,1)*
Piel con DA sin lesiones	166 (101,2, 4755,6)	-11 (-90,7, 1063,4)	374 (84,8, 3146,4)	-89 (-97,5, -21,6)

* $P < 0,05$ frente a placebo; C1, cuartil inferior del intervalo intercuartílico; C3, cuartil superior del intervalo intercuartílico; UFCr, unidades formadoras de colonias relativas; 1vs, una vez a la semana

En piel con DA sin lesiones, el grupo con dupilumab demostró una reducción numéricamente mayor en la abundancia de *S. aureus* en comparación con placebo (mediana de cambio porcentual desde el inicio hasta la semana 16 [Tabla 3; $P = 0,9865$]), y una reducción media global desde el inicio en la semana 16 en comparación con el placebo (Figura 11).

Ejemplo 1: Dupilumab mejora los síntomas de la rinitis alérgica perenne (RAP) en pacientes con asma persistente no controlada y RAP comórbida

Dupilumab, un anticuerpo monoclonal anti-receptor- α de interleucina (IL)-4, inhibe la señalización de IL-4 e IL-13, factores clave de la inflamación de tipo 2. En un estudio fundamental de fase 2b (NCT01854047), dupilumab mejoró el volumen espiratorio forzado en 1 segundo y redujo las exacerbaciones graves del asma, mejoró la calidad de vida y, en general, fue bien tolerado en pacientes con asma persistente no controlada a pesar del uso de corticosteroides inhalados junto con agonistas β_2 de acción prolongada (ICS +LABA) en dosis medias a altas. Este análisis *a posteriori* examina el efecto de dupilumab sobre la puntuación total de la prueba de resultados nasosinuales (SNOT-22, *Sino-Nasal Outcome Test-22*), así como sobre los elementos individuales normalmente asociados a la rinitis alérgica (obstrucción nasal, rinorrea, estornudos y goteo posnasal) en pacientes con rinitis alérgica perenne (RAP), una comorbilidad común del asma. La RAP se definió por la presencia de IgE específica $\geq 0,35$ kU/l contra antígenos perennes (*Aspergillus fumigatus*, caspa de gato, *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, caspa de perro, cucaracha alemana o cucaracha oriental) en el momento de iniciar el estudio. Debido a posibles efectos de confusión, los pacientes con poliposis nasal comórbida se excluyeron del análisis. Los datos se refieren a la población con intención de tratar que recibió placebo y cualquiera de las pautas terapéuticas de dupilumab de 200 o 300 mg cada 2 semanas [c2s] actualmente en investigación en fase 3 (NCT02414854). Los criterios de valoración fueron el cambio desde el inicio hasta la semana 24 en la puntuación total de SNOT-22, así como en los elementos individuales: goteo posnasal, obstrucción nasal, rinorrea y estornudos. De 392 pacientes que recibieron dupilumab (200 o 300 mg c2s) o placebo, 241 (61 %) tenían RAP. En pacientes con RAP, dupilumab 300 mg c2s mostró una mejoría significativa en la puntuación total de SNOT-22 (diferencia media de LS -5,98 [IC del 95 %, de -10,45 a -1,51], $P = 0,009$ frente a placebo) y en los 4 síntomas asociados a la rinitis alérgica definidos anteriormente en relación con el placebo (obstrucción nasal: -0,60 [IC del 95 %, de -0,96 a -0,25]; rinorrea: -0,67 [IC del 95 %, de -1,04 a -0,31]; estornudos: -0,55 [IC del 95 %, de -0,89 a -0,21]; y goteo posnasal: -0,49 [IC del 95 %, de -0,83 a -0,16]; todos $P < 0,01$ frente a placebo); dupilumab 200 mg c2s mostró una disminución numérica, aunque no estadísticamente significativa, en la puntuación total de SNOT-22 (-1,82 [IC del 95 %, de -6,46 a 2,83], $P = 0,443$) así como en los 4 síntomas asociados a la rinitis alérgica. No se observaron diferencias con respecto al placebo en pacientes sin RAP en la puntuación total de SNOT-22 ni en los 4 síntomas asociados a la rinitis alérgica. En conclusión, dupilumab 300 mg c2s mejora significativamente los síntomas

nasosinusales en pacientes con asma persistente no controlada y RAP comórbida.

REIVINDICACIONES

1. Dupilumab para su uso en un método para el tratamiento de la alergia en un sujeto, en donde el método comprende:

5 (a) seleccionar a un sujeto con un nivel elevado de IgE específica de alérgeno en suero, en donde el nivel de IgE específica de alérgeno en suero es $\geq 0,35$ kU/l antes o en el momento del tratamiento, según lo determinado por un inmunoensayo; y

10 (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dupilumab, en donde:

(i) el sujeto tiene asma persistente no controlada a pesar del uso de corticoesteroides inhalados junto con agonistas β_2 de acción prolongada (ICS +LABA) en dosis medias a altas; y

15 (ii) el sujeto también tiene rinitis alérgica perenne (RAP) comórbida; y

(iii) el dupilumab se administra a una dosis de aproximadamente 300 mg cada dos semanas; y

20 (iv) el alérgeno se selecciona del grupo que consiste en *Aspergillus fumigatus*, caspa de gato, *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, caspa de perro y cucaracha alemana.

2. Dupilumab para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el método comprende además administrar una dosis inicial de dupilumab de 600 mg.

25 3. Dupilumab para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el dupilumab se administra al sujeto por vía subcutánea.

30 4. Dupilumab para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde al sujeto se le administra un segundo agente terapéutico antes, después o concomitante con el dupilumab, preferentemente en donde el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en un antihistamínico, inmunoterapia sistémica, un corticoesteroide, un agonista β_2 de acción prolongada, un inhibidor del factor de necrosis tumoral (TNF), un inhibidor de interleucina 1 (IL-1), un inhibidor de IL-5, un inhibidor de IL-8, un inhibidor de IgE, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) e interferón gamma (IFN γ).

35 5. Dupilumab para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dupilumab está contenido en una jeringa.

6. Dupilumab para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dupilumab está contenido en un dispositivo de suministro de pluma.

40 7. Dupilumab para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el dispositivo de suministro de pluma está precargado.

45 8. Dupilumab para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dupilumab está contenido en un autoinyector.

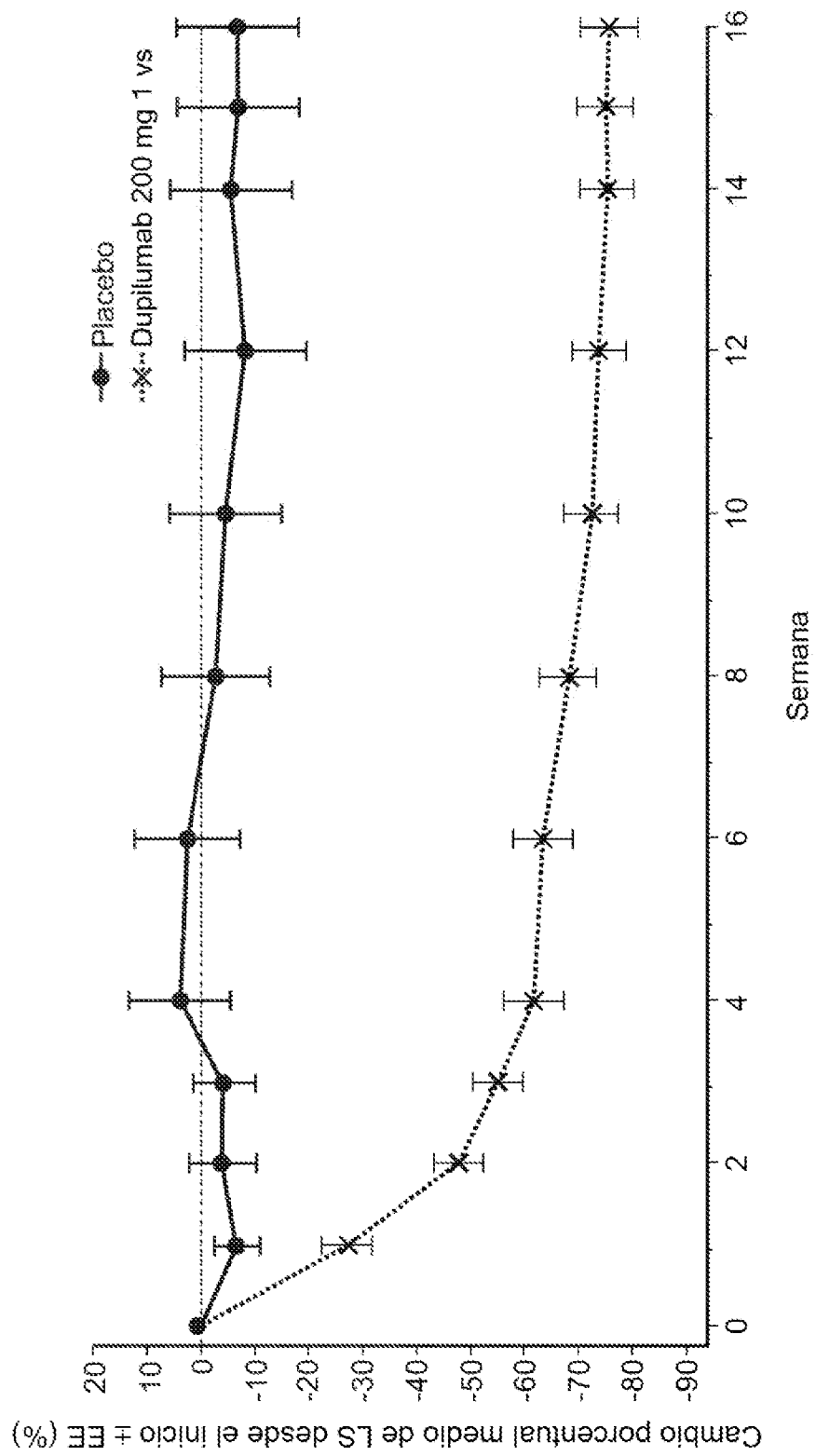


Figura 1

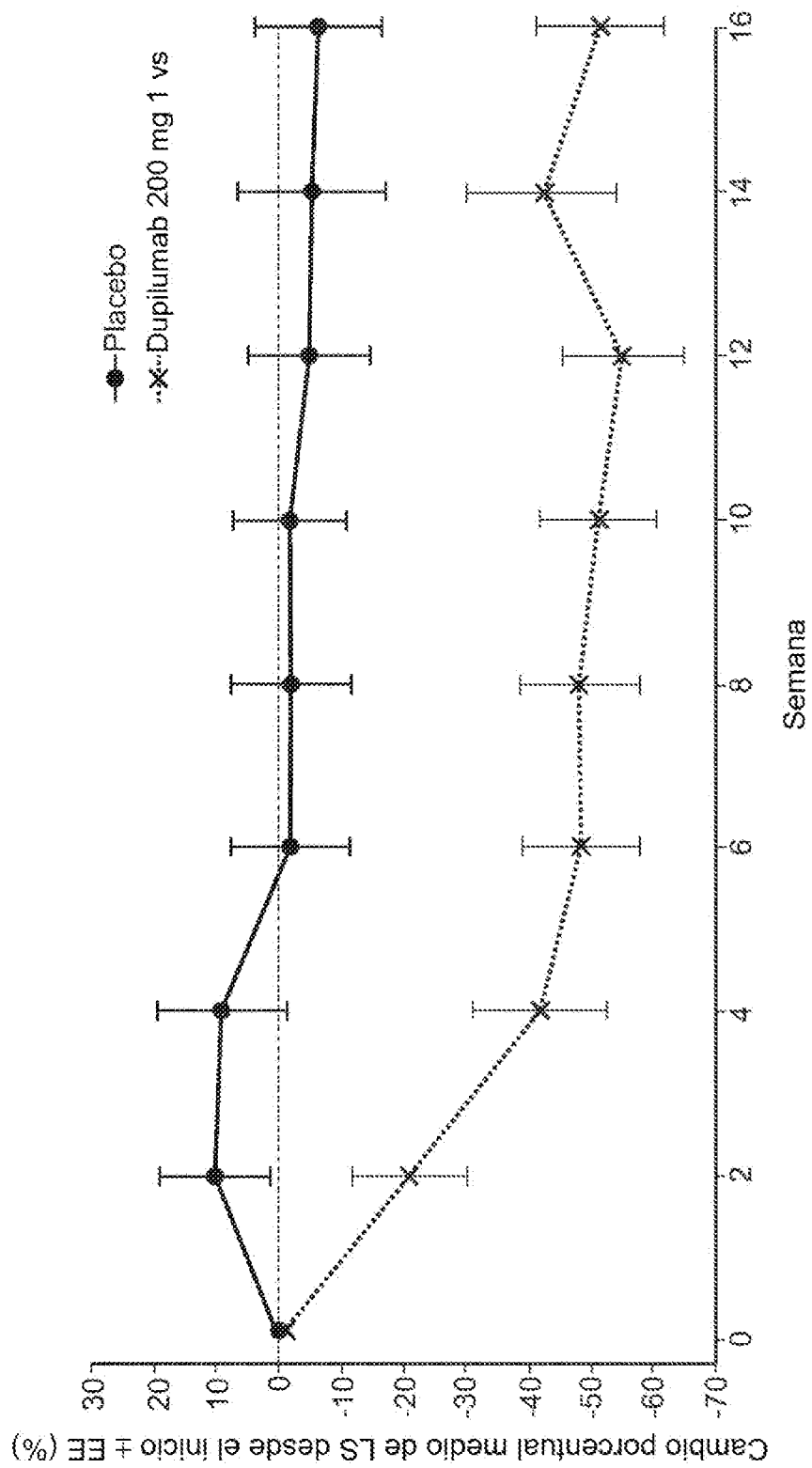
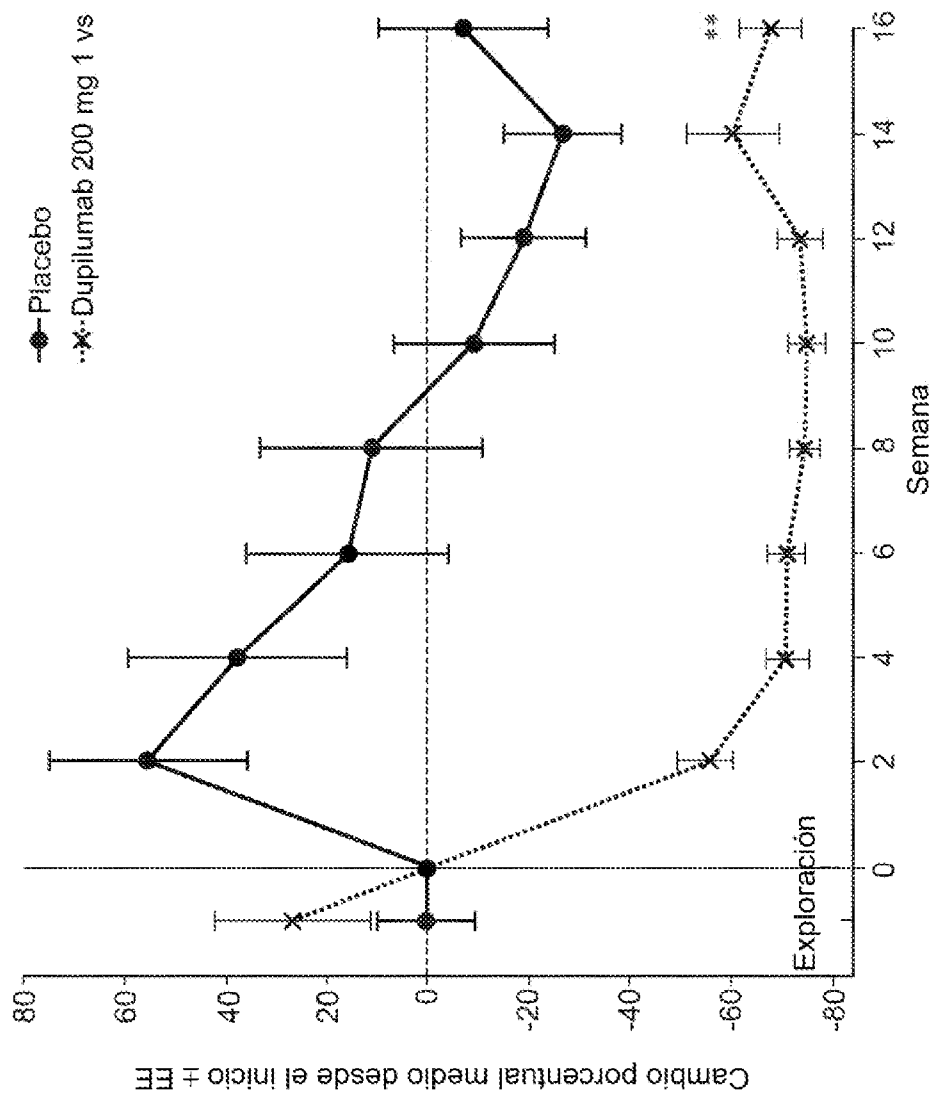
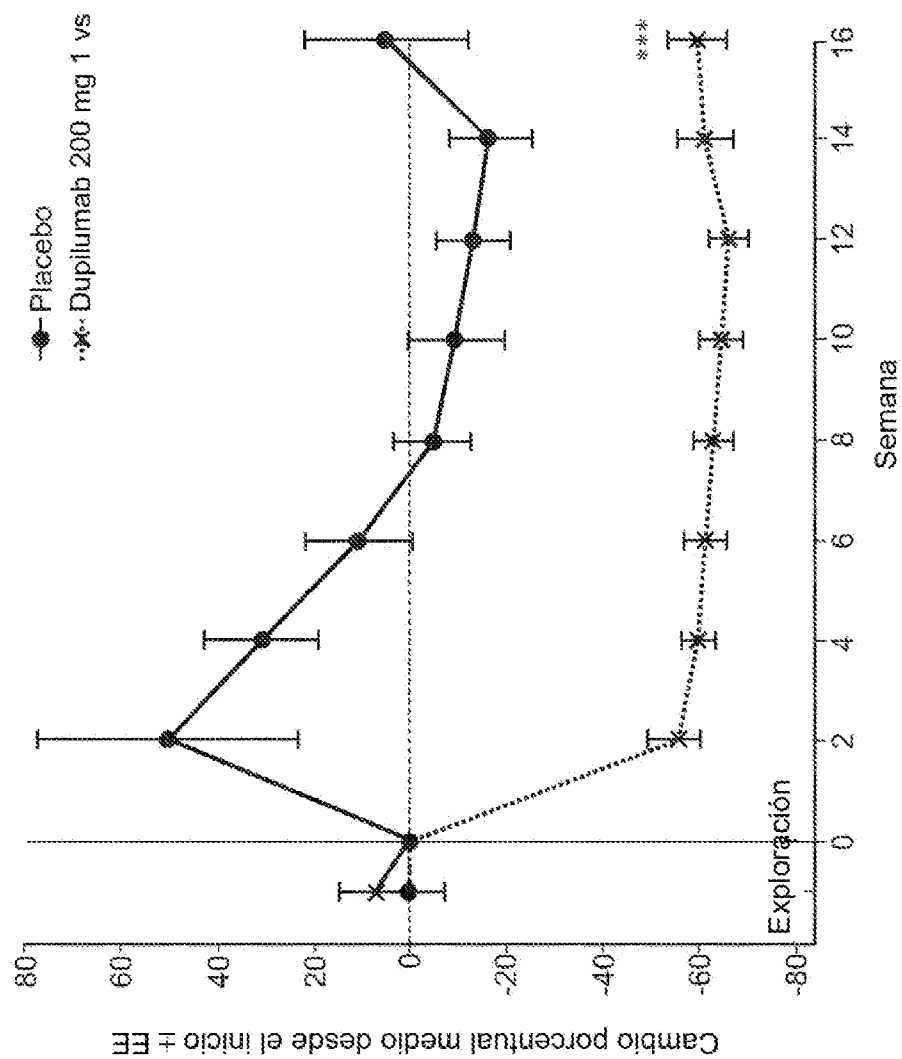


Figura 2



Semana		-2	0	1	2	3	4	6	8	10	12	14	15	16	
		n													
PBO		27	27	26	25	26	22	16	14	15	14	12	13	12	
DPL 200 mg 1 vs		27	27	27	26	25	24	24	24	24	24	23	23	22	21

Figura 3



Semana	-2	0	1	2	3	4	6	8	10	12	14	15	16
n													
PBO	27	27	26	25	25	22	16	14	15	14	12	13	12
DPL 200 mg 1 vs	27	27	27	26	24	24	24	24	24	24	23	22	21

Figura 4

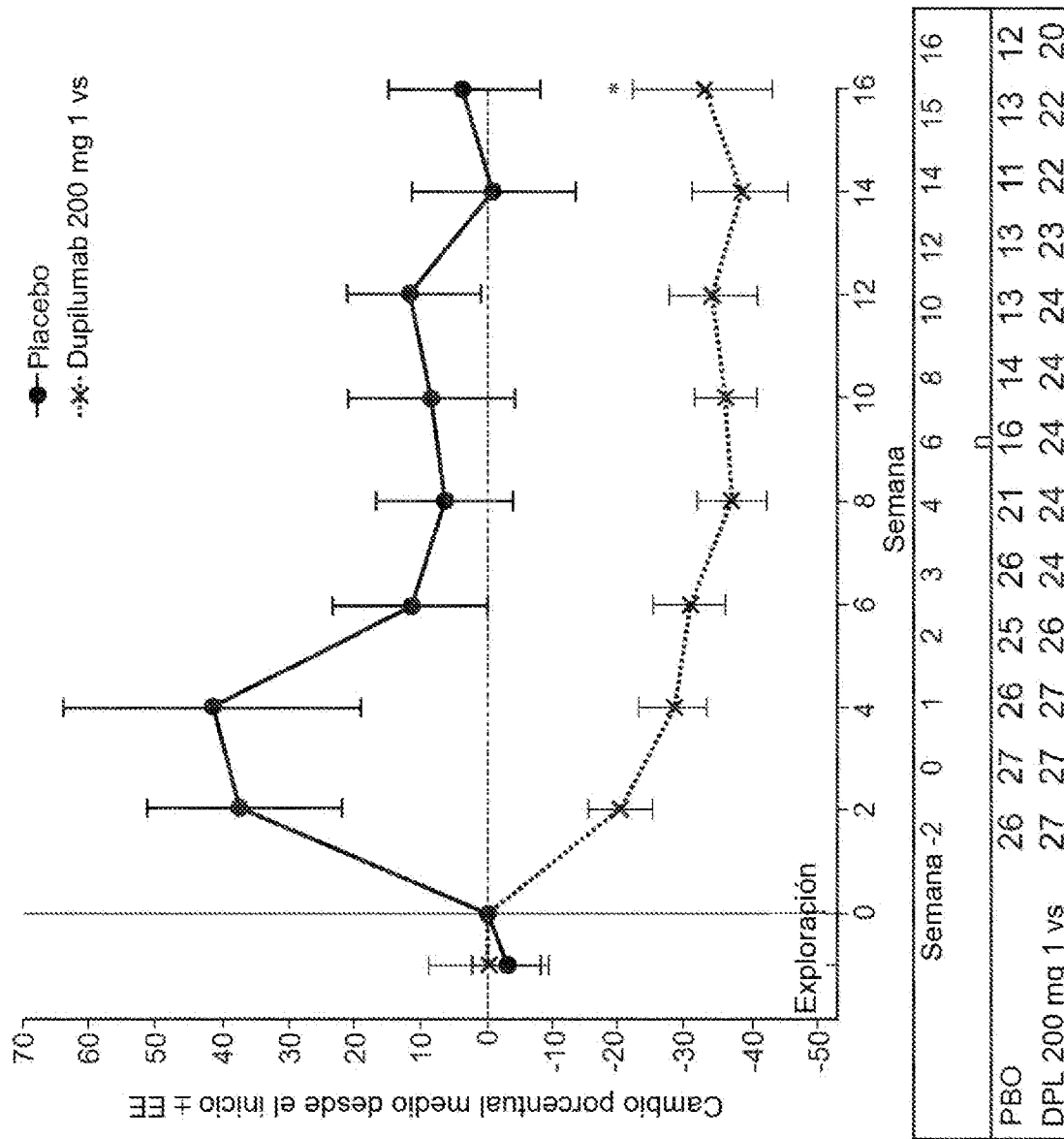
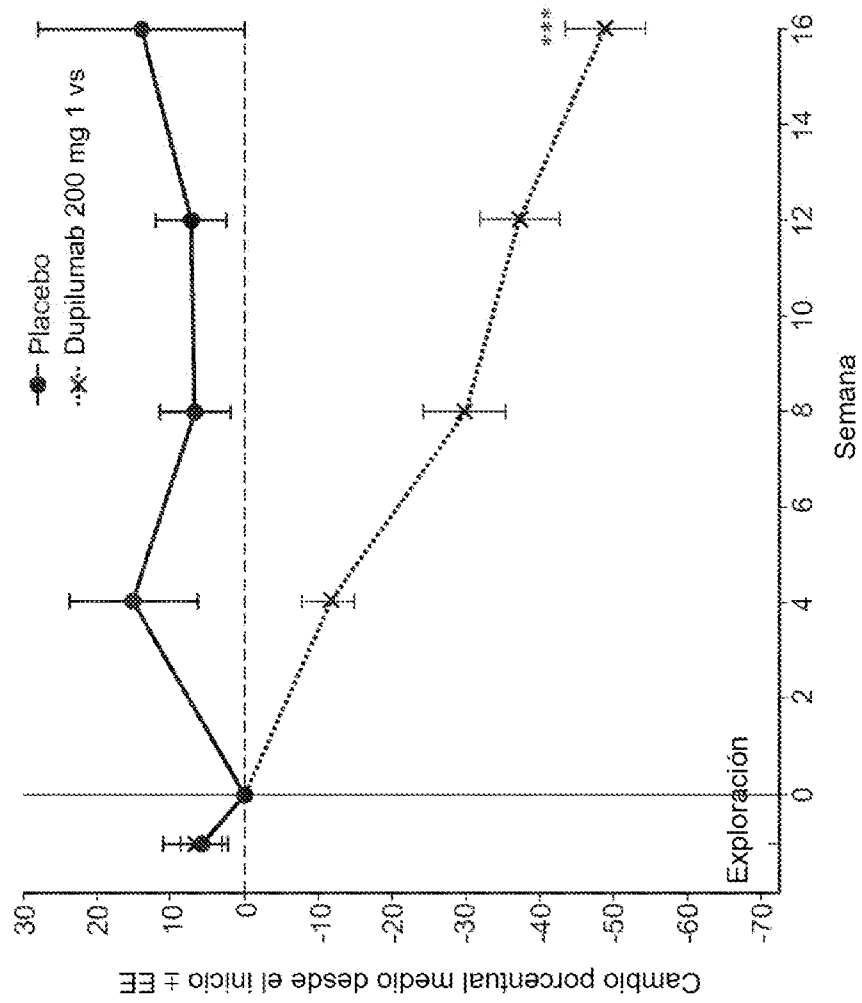


Figura 5



Semana		-2	0	4	8	12	16
		n					
PBO		27	27	21	14	14	12
DPL 200 mg 1 vs		27	27	24	24	23	19

Figura 6

IgE específica de antígeno	Placebo 1 vs (n = 27)		Dupilumab 200 mg 1 vs (n = 27)	
	Mediana inicial (C1, C3), kU/l	Mediana de cambio porcentual (C1, C3), kU/l	Mediana inicial (C1, C3), kU/l	Mediana de cambio porcentual (C1, C3), kU/l
Cucaracha alemana	3 (0,7, 20,8)	23 (8,9, 30,8)	1 (0,3, 2,3)	-54 (-78,3, -18,5)*
<i>Cladosporium</i>	2 (0,8, 4,8)	36 (6,6, 65,4)	1 (0,4, 9,4)	-62 (-75,0, -33,1)*
Enterotoxina A estafilocócica	1 (0,5, 2,1)	0 (-23,4, 26,8)	1 (0,3, 1,7)	-61 (-75,8, -50,4)**
Pasto Bermuda	4 (1,0, 34,7)	12 (-27,6, 82,3)	2 (0,7, 3,8)	-60 (-66,9, -39,9)**
Abedul plateado	27 (6,1, 56,5)	28 (-47,5, 130,0)	10 (0,5, 35,0)	-56 (-67,2, -41,8)*
Roble blanco	15 (2,7, 38,7)	5 (-33,6, 51,4)	1 (0,3, 11,8)	-55 (-70,2, -39,8)**
Olmo	4 (1,1, 16,9)	-10 (-41,2, 22,9)	1 (0,5, 4,5)	-54 (-66,7, -31,7)*
Pasto Johnson	6 (0,8, 14,1)	-9 (-30,4, 17,4)	1 (0,4, 1,9)	-52 (-71,6, -36,7)**
Caspa de gato	22 (3,5, 51,6)	-25 (-36,8, 0,0)	13 (2,2, 46,5)	-51 (-56,1, -33,3)*
Aliso gris	16 (2,0, 38,9)	27 (-35,0, 131,7)	7 (0,4, 22,4)	-50 (-70,3, -30,3)**
Hierba timotea (<i>Phleum</i> .)	27 (1,7, 54,1)	21 (-7,7, 49,2)	1 (0,7, 7,5)	-50 (-66,7, -34,0)**
Fresno blanco	10 (1,2, 40,8)	31 (-36,1, 39,5)	1 (0,4, 16,2)	-53 (-65,4, -26,6)**
Caspa de perro	25 (1,2, 95,8)	-1 (-31,8, 49,7)	11 (3,2, 54,5)	-49 (-63,0, -40,0)*
<i>Alternaria tenuis</i>	1 (0,6, 5,3)	8 (0,0, 89,1)	1 (0,4, 4,3)	-46 (-61,5, -38,9)**
Artemisa salvia	20 (4,7, 40,0)	-7 (-28,2, 0,0)	2 (0,8, 13,2)	-41 (-59,4, -32,4)*
<i>Dermatophagoides farinae</i>	63 (16,6, 200,0)	0 (0,0, 78,5)	66 (9,3, 200,0)	-39 (-63,1, -5,4)**
Enterotoxina B estafilocócica	1 (0,4, 2,8)	-12 (-23,7, -1,7)	1 (0,2, 2,9)	-33 (-58,3, -22,8)*

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ frente a placebo C1, cuartil inferior del intervalo intercuartillico; C3, cuartil superior del intervalo intercuartillico; 1 vs, una vez a la semana

Figura 7

Placebo 1 vs (n = 61)		Dupilumab 100 mg c4s (n = 65)		Dupilumab 300 mg c4s (n = 65)	
IgE específica de antígeno	Mediana inicial (C1, C3), KU//	Mediana de cambio porcentual (C1, C3), KU//	Mediana inicial (C1, C3), KU//	Mediana de cambio porcentual (C1, C3), KU//	Mediana de cambio porcentual (C1, C3), KU//
<i>Candida albicans</i>	5 (0,3, 11,4)	1 (-13,5, 34,6)	3 (0,4, 12,0)	-18 (-39,5, 0,0)**	-43 (-58,8, -7,7)¶
Enterotoxina A estafil.	1 (0,2, 2,4)	0 (-15,0, 28,4)	1 (0,1, 2,0)	-32 (-48,1, -2,9)¶	-33 (-56,4, 0,0)¶
<i>P. orbiculare/</i> <i>M. furfur</i>	5 (0,1, 17,5)	0 (-23,1, 9,2)	8 (0,4, 15,3)	-17 (-33,3, 0,0)	-32 (-56,8, 0,0)¶
Mezcla de maleza 2	1 (0,2, 8,9)	14 (-13,8, 75,4)	2 (0,3, 14,1)	-19 (-45,8, 0,0)**	-30 (-57,3, 0,0)**
Caspa de gato	4 (0,3, 22,7)	0 (-16,7, 22,7)	8 (0,2, 26,0)	-14 (-35,4, 0,0)*	-36 (-54,9, -4,4)¶
Mezcla de mohó 1	2 (0,3, 10,5)	2 (-11,7, 30,3)	2 (0,4, 9,9)	-10 (-32,9, 0,0)\$	-33 (-55,3, 0,0)¶
Enterotoxina B estafil.	0 (0,2, 1,5)	0 (-11,1, 31,1)	0 (0,1, 1,3)	-14 (-33,7, 0,0)\$	-23 (-43,2, 0,0)¶
<i>D. farinae</i>	62 (1,5, 100,0)	0 (0,0, 0,0)	24 (1,1, 81,0)	0 (-25,8, 0,0)*	-26 (-46,2, 0,0)**
<i>D. pteronyssinus</i>	66 (0,2, 100,0)	0 (-24, 0,0)	52 (0,37, 100,0)	-8 (-35,3, 0,0)*	-11 (-43,5, 0,0)**

Figura 8

Dupilumab 200 mg c2s (n = 61)				Dupilumab 300 mg c2s (n = 64)				Dupilumab 300 mg 1 vs (n = 63)			
IgE específica de antígeno	Mediana inicial (IQR), kU/l	Mediana de cambio porcentual (IQR), kU/l	Mediana inicial (IQR), kU/l	Mediana de cambio porcentual (IQR3), kU/l	Mediana inicial (IQR), kU/l	Mediana porcentual (IQR), kU/l	Mediana inicial (IQR), kU/l	Mediana porcentual (IQR), kU/l			
<i>Candida albicans</i>	2 (0,3, 8,0)	-26 (-51,4, 0,0)¶	3 (0,5, 11,9)	-40 (-58,7, 0,0)¶¶	6 (0,2, 14,4)	-33 (-49,9, -0,0)¶¶					
Enterotoxina A estafil.	0 (0,1, 1,0)	-24 (-47,2, 0,0)¶¶	1 (0,1, 1,5)	-37 (-58,3, 0,0)¶¶	1 (0,1, 1,5)	-14 (-45,8, 0,0)¶¶					
<i>P. orbiculare</i> / <i>M. furfur</i>	2 (0,2, 21,1)	-26 (-45,0, 0,0)§	4 (0,2, 21,1)	-41 (-61,5, -9,0)¶¶	8 (0,1, 19,5)	-23 (-44,6, 0,0)**					
Mezcla de maleza 2	1 (0,2, 4,1)	-29 (-48,1, 0,0)§	3 (0,2, 17,8)	-33 (-53,7, 0,0)§	0 (0,1, 10,0)	-24 (-47,9, 0,0)**					
Caspa de gato	6 (0,4, 23,1)	-31 (-42,5, 0,0)¶¶	8 (0,3, 37,1)	-25 (-41,2, 0,0)**	4 (0,2, 3,0)	-27 (-45,5, 0,0)§					
Mezcla de moho 1	1 (0,2, 5,4)	-22 (-50,8, 0,0)¶¶	3 (0,3, 9,3)	-35 (-55,6, 0,0)¶¶	2 (0,2, 10,9)	-30 (-48,2, 0,0)¶¶					
Enterotoxina B estafil.	0 (0,1, 1,0)	-18 (-47,6, 0,0)¶¶	1 (0,2, 1,8)	-28 (-48,1, -3,1)¶¶	0 (0,1, 1,0)	-3 (-39,7, 0,0)¶¶					
<i>D. farinae</i>	8 (1,8, 100,0)	-32 (-46,2, 0,0)¶¶	28 (0,6, 100,0)	-19 (-52,4, 0,0)**	6 (0,1, 100,0)	-5 (-51,3, 0,0)**					
<i>D. pteronyssinus</i>	28 (0,6, 98,1)	-18 (-44,6, 0,0)*	18 (0,6, 92,2)	-22(-50,0, 0,0)**	100 (4,8, 100,0)	0 (-38,0, 0,0)*					

Figura 9

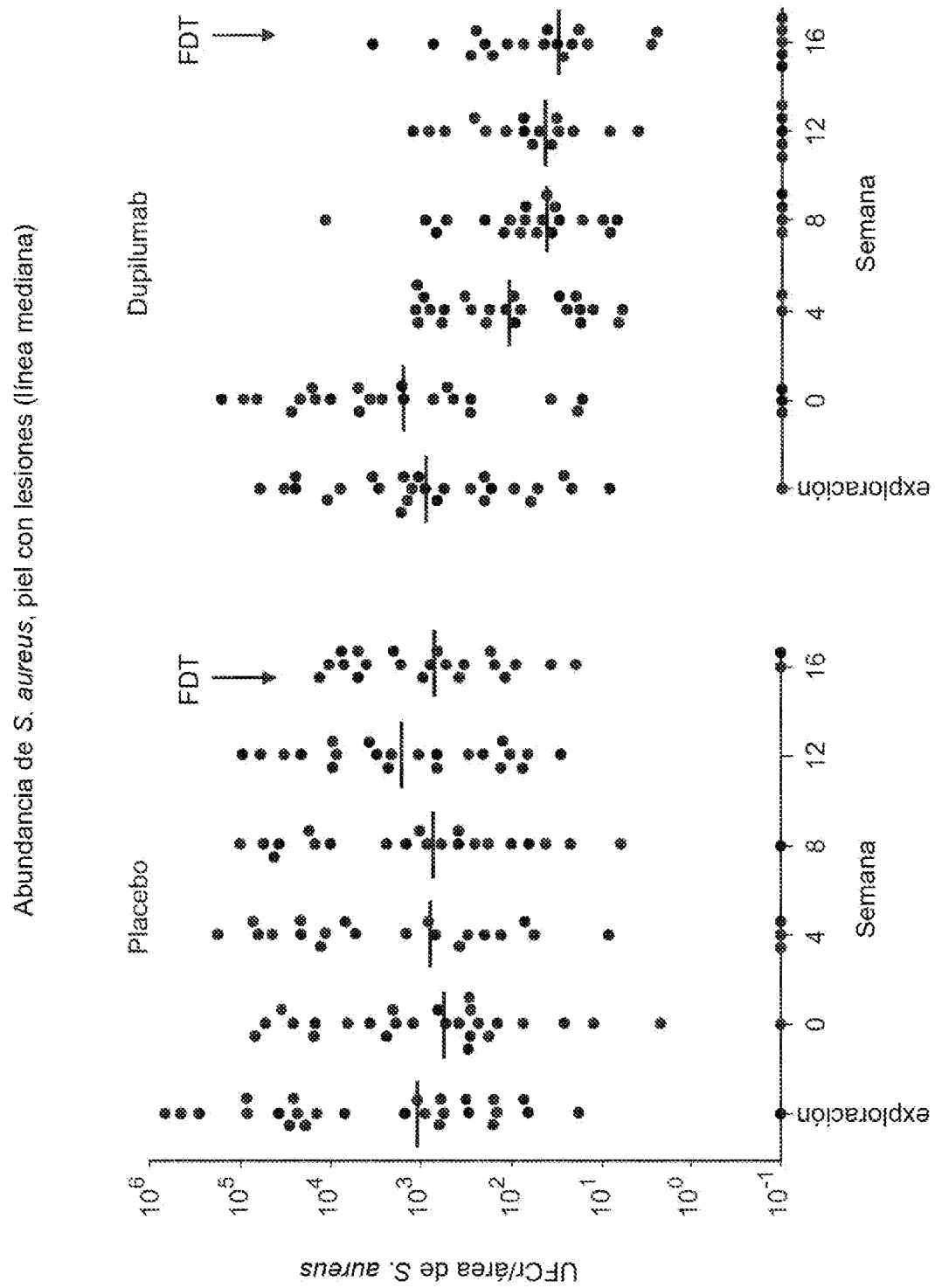


Figura 10

Abundancia de *S. aureus*, piel sin lesiones (línea mediana)

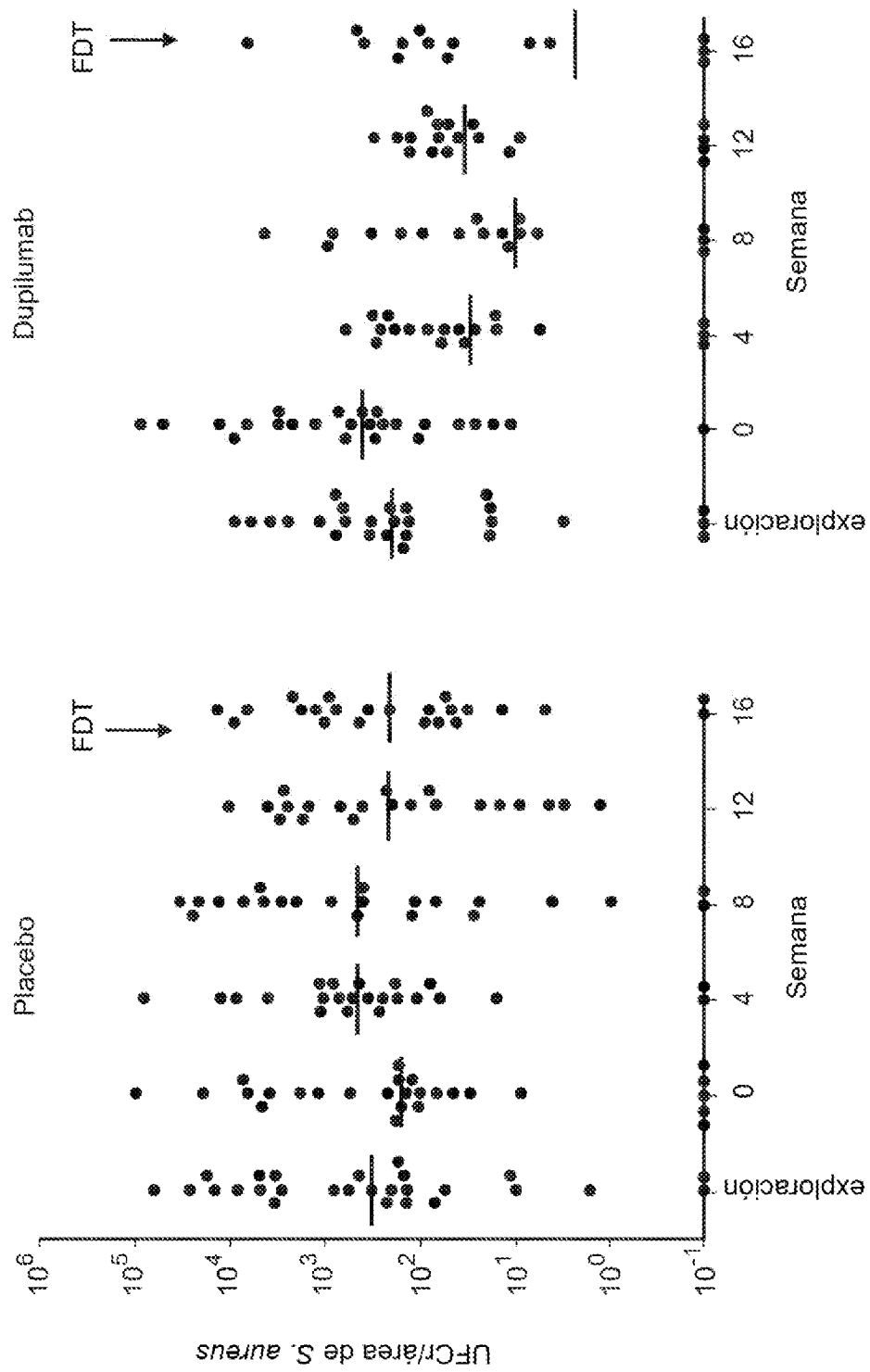


Figura 11