

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 007 182**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.10.2016** **PCT/US2016/055841**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.04.2017** **WO17062682**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2016** **E 16790464 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2024** **EP 3359572**

54 Título: **Procedimiento para tratar la esclerosis múltiple**

30 Prioridad:

06.10.2015 US 201562238103 P
07.10.2015 US 201562238674 P
28.12.2015 US 201562271985 P
16.02.2016 US 201662296049 P
14.04.2016 US 201662322734 P
27.05.2016 US 201662342633 P
27.06.2016 US 201662355299 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.03.2025

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.00%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es:

LEPPERT, DAVID;
LI-KWAI-CHEUNG, ANNE-MARIE;
LIBONATI, MICHELE;
MASTERMAN, DONNA;
PFEFEN, JEAN-PAUL;
SMITH, CRAIG;
WEISSKOPF, ALGIRDAS JONAS, KAKARIEKA;
ZHANG, JIAMENG;
CHIN, PETER, S. y
GARREN, HIDEKI

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones:

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

ES 3 007 182 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

Procedimiento para tratar la esclerosis múltiple

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un anticuerpo anti-CD20 que es ocrelizumab para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple, como se define además en las reivindicaciones.

10 Antecedentes de la invención

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad degenerativa inflamatoria y desmielinizante del sistema nervioso central (SNC) humano. Es una enfermedad mundial que afecta aproximadamente a 300.000 personas en Estados Unidos; es una enfermedad de adultos jóvenes, y teniendo un 70 %-80 % una aparición entre los 20 y los 40 años (Anderson *et al. Ann Neurology* 31 (3):333-6 (1992); Noonan *et al. Neurology* 58:136-8 (2002)). La EM es un trastorno heterogéneo basado en la evolución clínica, evaluación de la resonancia magnética nuclear (RMN) y análisis patológico del material de biopsia y autopsia (Lucchinetti *et al. Ann Neurol* 47:707-17 (2000)). La enfermedad se manifiesta por sí misma en una gran cantidad de posibles combinaciones de deficiencias, incluyendo síndromes de médula espinal, tronco encefálico, nervio craneal, cerebeloso, cerebral y cognitivo. La discapacidad progresiva es el destino de la mayoría de los pacientes con EM, especialmente cuando se incluye una perspectiva de 25 años. La mitad de los pacientes con EM requieren un bastón para caminar dentro de los 15 años de la aparición de la enfermedad. La EM es una causa principal de discapacidad neurológica en adultos jóvenes y de mediana edad y, hasta la última década, no se conocían tratamientos beneficiosos. La EM es difícil de diagnosticar debido a los hallazgos clínicos inespecíficos, lo que dio lugar al desarrollo de criterios de diagnóstico altamente estructurados que incluyen varios avances tecnológicos, que consisten en RMN, potenciales provocados y estudios del líquido cefalorraquídeo (LCR). Todos los criterios de diagnóstico se basan en los principios generales de lesiones difusas en la sustancia blanca central que se producen en diferentes momentos y no se explican por otras etiologías tales como infección, trastorno vascular o trastorno autoinmunitario (McDonald *et al. Ann Neurol* 50:121-7 (2001)). La EM tiene cuatro patrones de enfermedad: EM recidivante-remite (EMRR; 80 %-85 % de los casos en la aparición), EM progresiva primaria (EMPP; 10 %-15 % en la aparición), EM recidivante progresiva (EMRP; 5 % en la aparición); y EM progresiva secundaria (EMPS) (Kremenchutzky *et al. Brain* 122 (Pt 10):1941-50 (1999); Confavreux *et al. N Engl J Med* 343(20):1430-8 (2000)). Un 50 % estimado de pacientes con EMRR desarrollarán EMPS en 10 años, y hasta un 90 % de pacientes con EMRR desarrollarán finalmente EMPS (Weinshenker *et al. Brain* 112(Pt 1): 133-46 (1989)).

Se han aprobado en Estados Unidos varios fármacos modificadores de la enfermedad en cinco clases para el tratamiento de EMRR, mientras que no se ha aprobado ningún fármaco para EMPP. Los tratamientos de EMRR incluyen los siguientes: clase interferón, IFN-beta-1a (REBIF®, Extavia, AVONEX® y PLEGRIDY™ e IFN-beta-1b (BETASERON®); acetato de glatirámico (COPAXONE®), un polipéptido; natalizumab (TYSABRI®), alemtuzumab (LEMTRADA®), ambos anticuerpos monoclonales; fumarato de dimetilo (TECFIDERA®) y fingolimod (GILENYA®), ambas moléculas pequeñas, y mitoxantrona (NOVANTRONE®), un agente citotóxico; teriflunomida (AUBAGIO®). Se han usado otros fármacos con el objetivo de modificación de la enfermedad con grados variables de éxito, incluyendo metotrexato, ciclofosfamida, azatioprina e inmunoglobulina intravenosa (i.v.). Los tratamientos actuales carecen de eficacia suficiente para sofocar la enfermedad temprana o no se usan en EM temprana debido a los efectos secundarios asociados (Hartung *et al. (2011) Expert Rev Neurother.* 11, 351-62; Freedman *et al., Mult. Scler. Relat. Disord.* 3(2):147-55, 2014). Por tanto, sigue existiendo la necesidad de tratamientos altamente eficaces con un perfil de beneficio-riesgo aceptable que se puedan administrar al principio del curso de la enfermedad para disminuir las consecuencias a largo plazo de la acumulación de discapacidad y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Breve resumen de la invención

La presente invención se refiere a un anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD20, en el que el paciente tiene una mejora en la capacidad funcional después del tratamiento; en el que el anticuerpo anti-CD20 es ocrelizumab; en el que la esclerosis múltiple es una esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP) con lesiones con tinción de gadolinio en T1; y en el que la mejora de la capacidad funcional se mide por la prueba de marcha cronometrada de 25 pies (T-25FW) o puntuación EDSS.

La invención se define por las reivindicaciones adjuntas. Cualquier referencia en la descripción a procedimientos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un procedimiento para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) para tratamiento (o para diagnóstico).

En algunos modos de realización, el paciente tiene una mejora de la discapacidad confirmada de 12 semanas

después del tratamiento. En algunos modos de realización, el paciente tiene una mejora de la discapacidad confirmada de 24 semanas después del tratamiento. En algunos modos de realización, la mejora en la capacidad funcional en el paciente se mantiene durante al menos 12 semanas. En algunos modos de realización, la mejora en la capacidad funcional en el paciente se mantiene durante al menos 24 semanas. Como se explica anteriormente, la mejora en la capacidad funcional se mide por la prueba de marcha cronometrada de 25 pies (T-25FW) o puntuación EDSS. En algunos modos de realización, la mejora en la capacidad funcional se mide por la prueba de marcha cronometrada de 25 pies (T-25FW) y puntuación EDSS.

De acuerdo con lo anterior, la invención se refiere a un anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple, como se define además en el presente documento anteriormente y en las reivindicaciones, en el que el paciente tiene lesiones con tinción de gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una exposición a anticuerpo anti-CD20 inicial seguido de una segunda exposición a anticuerpo anti-CD20, en la que la primera y segunda exposiciones son cada una de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y en la que el intervalo entre la primera exposición y la segunda exposición es de aproximadamente 20-24 semanas o de aproximadamente 5-6 meses. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una tercera exposición a anticuerpo anti-CD20, en la que la tercera exposición es de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y en la que el intervalo entre la segunda exposición y la tercera exposición es de aproximadamente 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una cuarta exposición a anticuerpo anti-CD20, en la que la cuarta exposición es de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y en la que el intervalo entre la tercera exposición y la cuarta exposición es de aproximadamente 20-24 semanas o de aproximadamente 5-6 meses.

En algunos modos de realización, la primera exposición comprende una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente dos semanas o aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días). En algunos modos de realización, "aproximadamente 14 días" se refiere a una variación de 1 día antes o después del día 14. En algunos modos de realización, la segunda, tercera y/o cuarta exposición comprenden una dosis única de aproximadamente 600 mg. En algunos modos de realización, la exposición inicial y la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones adicionales comprenden una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente dos semanas o aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días).

En algunos modos de realización, el paciente tiene una capacidad funcional mejorada después de una, dos, tres y/o cuatro exposiciones del anticuerpo anti-CD20.

En determinados modos de realización, el paciente mantiene la capacidad de montar una respuesta humoral a un antígeno durante el tratamiento. En determinados modos de realización, el antígeno es un antígeno de las paperas, un antígeno de rubéola, un antígeno de varicela, un antígeno de *S. pneumoniae*, un antígeno de toxoide tetánico, un antígeno neumocócico o un antígeno de gripe.

En determinados modos de realización, el paciente se premedica antes de la infusión con el anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica con metilprednisolona (o un equivalente) aproximadamente 30 minutos antes de cada infusión de anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica con 100 mg i.v. de metilprednisolona (o un equivalente) aproximadamente 30 minutos antes de cada infusión de anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica adicionalmente (o de forma alternativa) con un fármaco antihistamínico (por ejemplo, difenhidramina) aproximadamente 30-60 minutos antes de cada infusión de anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica adicionalmente (o de forma alternativa) con un antipirético (por ejemplo, acetaminofeno/paracetamol).

En algunos modos de realización, se administra un segundo medicamento con la exposición inicial o exposiciones posteriores, en el que el anticuerpo anti-CD20 es un primer medicamento. En algunos modos de realización, el segundo medicamento se selecciona del grupo que consiste en un interferón, acetato de glatirámico, un agente citotóxico, un agente quimioterápico, mitoxantrona, metotrexato, ciclofosfamida, clorambucilo, azatioprina, gamma globulina, Campath, anti-CD4, cladribina, corticoesteroide, micofenolato de mofetilo (MMF), ciclosporina, fármaco reductor de colesterol de la clase de las estatinas, estradiol, testosterona, fármaco de reemplazo hormonal, un inhibidor de TNF, fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (DMARD), fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), levotiroxina, ciclosporina A, análogo de somatostatina, antagonista de receptor de citocina o citocina, antimetabolito, agente inmunodepresor, anticuerpo para o antagonista de integrina, anticuerpo para LFA-1, efalizumab, anticuerpo para integrina alfa 4, natalizumab y otro anticuerpo para marcador de superficie de linfocitos B.

Como se explica anteriormente, la esclerosis múltiple es una esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP).

Como se explica anteriormente, la invención se refiere a un anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple, en el que la esclerosis múltiple es una esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP) con lesiones con tinción de gadolinio en T1, como se define además en el presente documento anteriormente y en las reivindicaciones. En línea con esto, en determinados modos de realización, el paciente se selecciona para el tratamiento en base a que tiene EMPP. En determinados modos de realización, el tratamiento se basa en que el paciente tiene EMPP. En determinados modos de realización, al paciente se le diagnostica EMPP antes del tratamiento.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una exposición a anticuerpo anti-CD20 inicial seguido de una o más exposiciones a anticuerpo anti-CD20 adicionales, en la que cada exposición es de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y cada exposición se proporciona al paciente como una o dos dosis del anticuerpo anti-CD20, y en la que el intervalo entre cada exposición es de aproximadamente 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a un punto temporal entre 20 semanas y 24 semanas. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a una variación de una semana o 7 días antes o después de la semana 24. En algunos modos de realización, "aproximadamente 5-6 meses" se refiere a un punto temporal entre 5 y 6 meses.

En algunos modos de realización, la primera exposición comprende una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente dos semanas o aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días). En algunos modos de realización, "aproximadamente 14 días" se refiere a una variación de 1 día antes o después del día 14. En algunos modos de realización, la segunda, tercera y/o cuarta exposición comprenden una dosis única de aproximadamente 600 mg. En algunos modos de realización, la exposición inicial y la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones adicionales comprenden una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente dos semanas o aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días).

En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una exposición a anticuerpo anti-CD20 inicial seguido de una segunda exposición a anticuerpo anti-CD20, en la que la primera y segunda exposiciones son cada una de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y en la que el intervalo entre la primera exposición y la segunda exposición es de aproximadamente 20-24 semanas o de aproximadamente 5-6 meses. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una tercera exposición a anticuerpo anti-CD20, en la que la tercera exposición es de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y en la que el intervalo entre la segunda exposición y la tercera exposición es de aproximadamente 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una cuarta exposición a anticuerpo anti-CD20, en la que la cuarta exposición es de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y en la que el intervalo entre la tercera exposición y la cuarta exposición es de aproximadamente 20-24 semanas o de aproximadamente 5-6 meses.

En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera exposición comprende una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente dos semanas o aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días). En algunos modos de realización, "aproximadamente 14 días" se refiere a una variación de 1 día antes o después del día 14. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis se administran por vía intravenosa. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis comprenden cada una 250 ml de anticuerpo anti-CD20 a una concentración de aproximadamente 1,2 mg/ml. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis se infunden cada una a una tasa de 30 ml/hora. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la tasa de infusión de la primera y segunda dosis se puede incrementar en incrementos de 30 ml/hora hasta una tasa máxima de 180 ml/h. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis se dan cada una durante aproximadamente 2,5 horas.

En algunos modos de realización, la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones comprenden una dosis única de aproximadamente 600 mg. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la segunda, tercera y/o cuarta exposición se administran por vía intravenosa. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones comprenden cada una 500 ml de anticuerpo

anti-CD20 a una concentración de aproximadamente 1,2 mg/ml. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones se infunden cada una a una tasa de 40 ml/hora. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la tasa de infusión de la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones se puede incrementar en incrementos de 40 ml/hora hasta una tasa máxima de 200 ml/h. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis se dan cada una durante aproximadamente 3,5 horas.

En algunos modos de realización, la exposición inicial y la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones adicionales comprenden una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente dos semanas o aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días). En algunos modos de realización, "aproximadamente 14 días" se refiere a una variación de 1 día antes o después del día 14. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis se administran por vía intravenosa. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis comprenden cada una 250 ml de anticuerpo anti-CD20 a una concentración de aproximadamente 1,2 mg/ml. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis se infunden cada una a una tasa de 30 ml/hora. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la tasa de infusión de la primera y segunda dosis se puede incrementar en incrementos de 30 ml/hora hasta una tasa máxima de 180 ml/h. En determinados modos de realización de acuerdo con (o como se aplica a) cualquiera de los modos de realización anteriores, la primera y segunda dosis se dan cada una durante aproximadamente 2,5 horas.

En determinados modos de realización, el paciente recibe al menos 2, 3, 4 o más de 4 exposiciones a anticuerpo anti-CD20.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una o más exposiciones a anticuerpo anti-CD20 adicionales después de la cuarta exposición, en la que la una o más exposiciones adicionales es de aproximadamente 600 mg del anticuerpo, y en la que el intervalo entre la cuarta exposición y la exposición adicional es de aproximadamente 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a un punto temporal entre 20 semanas y 24 semanas. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a una variación de una semana o 7 días antes o después de la semana 24. En algunos modos de realización, "aproximadamente 5-6 meses" se refiere a un punto temporal entre 5 y 6 meses. En algunos modos de realización, el intervalo entre cada una de las exposiciones adicionales después de la cuarta exposición es de 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses. En algunos modos de realización, la una o más exposiciones comprenden una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días). En algunos modos de realización, "aproximadamente 14 días" se refiere a una variación de 1 día antes o después del día 14. En algunos modos de realización, la una o más exposiciones comprenden una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de aproximadamente 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días).

Como se explica anteriormente, el anticuerpo anti-CD20 que se va a usar de acuerdo con la invención es ocrelizumab. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 está en una composición farmacéuticamente aceptable. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 está en una formulación que comprende 30 mg/ml de anticuerpo, acetato de sodio 20 mM, trehalosa 106 mM, polisorbato 20 al 0,02 %, pH 5,3. En algunos modos de realización, el anticuerpo en la formulación se almacena a aproximadamente 2-8 °C a 300 mg/vial. En algunos modos de realización, el anticuerpo se diluye en solución salina (cloruro de sodio al 0,9 %) en una bolsa i.v. para su administración por infusión.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra por vía intravenosa. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra por vía intravenosa para cada exposición a anticuerpo. En algunos modos de realización, el anticuerpo se administra por vía subcutánea. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 se administra por vía subcutánea para cada exposición a anticuerpo.

En determinados modos de realización, una reducción o disminución o mejora después de la administración del anticuerpo anti-CD20 se puede comparar con un nivel de referencia, con un nivel en paciente(s) no tratado(s) y/o con un nivel en paciente(s), por ejemplo, tal como nivel medio, promedio o mediana de un grupo de pacientes, que recibieron un tratamiento diferente (tal como interferón beta-1a o REBIF®).

Breve descripción de los dibujos

La **FIG. 1A** es una alineación de secuencias que compara las secuencias de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera (V_L) de cada uno de 2H7 murino (SEQ ID NO:1), variante 2H7.v16 humanizada (SEQ ID NO:2) y

el subgrupo de la cadena ligera kappa humana I (SEQ ID NO:3). Las CDR de V_L de 2H7 y hu2H7.v16 son como sigue: CDR1 (SEQ ID NO:4), CDR2 (SEQ ID NO:5) y CDR3 (SEQ ID NO:6).

La **FIG. 1B** es una alineación de secuencias que compara las secuencias de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada (V_H) de cada uno de 2H7 murino (SEQ ID NO:7), variante 2H7.v16 humanizada (SEQ ID NO:8) y la secuencia consenso humana del subgrupo de la cadena pesada III (SEQ ID NO:9). Las CDR de V_H de 2H7 y hu2H7.v16 son como sigue: CDR1 (SEQ ID NO:10), CDR2 (SEQ ID NO:11) y CDR3 (SEQ ID NO:12).

En las **FIG. 1A** y **FIG. 1B**, las CDR1, CDR2 y CDR3 de cada cadena se encierran entre corchetes, flanqueadas por las regiones estructurales, FR1-FR4, como se indica. 2H7 se refiere al anticuerpo 2H7 murino. Los asteriscos entre dos filas de secuencias indican las posiciones que son diferentes entre las dos secuencias. La numeración de residuos es de acuerdo con Kabat *et al. Sequences of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991), con inserciones mostradas como a, b, c, d y e.

La **FIG. 2** muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera madura de 2H7.v16 (SEQ ID NO:13)

La **FIG. 3** muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada madura de 2H7.v16 (SEQ ID NO:14).

La **FIG. 4** muestra la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada madura de 2H7.v31 (SEQ ID NO:15). La cadena L de 2H7.v31 es la misma que para 2H7.v16.

La **FIG. 5** muestra una alineación de las cadenas ligeras maduras 2H7.v16 y 2H7.v511 (SEQ ID NOS. 13 y 16, respectivamente), con numeración de residuos del dominio variable Kabat y numeración de residuos del dominio constante EU.

La **FIG. 6** muestra una alineación de las cadenas pesadas maduras 2H7.v16 y 2H7.v511 (SEQ ID NOS. 14 y 17, respectivamente), con numeración de residuos del dominio variable Kabat y numeración de residuos del dominio constante EU.

La **FIG. 7** muestra una visión general del diseño de estudio para dos estudios de fase III idénticos (es decir, el ESTUDIO I y el ESTUDIO II) de ocrelizumab en comparación con interferón beta-1a (REBIF®) en pacientes con esclerosis múltiple recidivante.

La **FIG. 8** muestra el plan de análisis estadístico jerárquico para el ESTUDIO I y el ESTUDIO II.

La **FIG. 9** muestra la disposición de pacientes en el ESTUDIO I y EL ESTUDIO II.

La **FIG. 10A** muestra la tasa de recidiva anualizada (ARR) a las 96 semanas para pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 10B** muestra la tasa de recidiva anualizada (ARR) a las 96 semanas para pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 11** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada (CDP) durante al menos 12 semanas durante un período de 96 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a (datos agrupados del ESTUDIO I y el ESTUDIO II).

La **FIG. 12A** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas durante un período de 96 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 12B** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas durante un período de 96 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 13** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas durante un período de 96 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a (datos combinados del ESTUDIO I y el ESTUDIO II).

La **FIG. 14A** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas durante un período de 96 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 14B** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas durante un período de 96 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes tratados con interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 15A** muestra la proporción de pacientes (con puntuación EDSS de referencia de 2,0 o más) con mejora de discapacidad confirmada (es decir, CDI) durante al menos 12 semanas en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a (los datos agrupados del ESTUDIO I y el ESTUDIO II).

La **FIG. 15B** muestra la proporción de pacientes (con puntuación EDSS de referencia de 2,0 o más) con mejora de discapacidad confirmada (es decir, CDI) durante al menos 24 semanas en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a (los datos agrupados del ESTUDIO I y el ESTUDIO II).

La **FIG. 16A** muestra la proporción de pacientes (con puntuación EDSS de referencia de 2,0 o más) con mejora de discapacidad confirmada (es decir, CDI) durante al menos 12 semanas en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 16B** muestra la proporción de pacientes (con puntuación EDSS de referencia de 2,0 o más) con mejora de discapacidad confirmada (es decir, CDI) durante al menos 12 semanas en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 16C** muestra el cambio en la puntuación del compuesto funcional de esclerosis múltiple desde el inicio hasta la semana 96 de pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 16D** muestra el cambio en la puntuación del compuesto funcional de esclerosis múltiple desde el inicio hasta la semana 96 de pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 17A** muestra el número total de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 detectadas la semana 24, semana 48 y semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 17B** muestra el número total de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 detectadas la semana 24, semana 48 y semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 18A** muestra el número total medio de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 en pacientes que recibieron ocrelizumab la semana 24, la semana 48 y la semana 96 en comparación con pacientes que recibieron IFN β -1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 18B** muestra el número total medio de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 en pacientes que recibieron ocrelizumab la semana 24, la semana 48 y la semana 96 en comparación con pacientes que recibieron IFN β -1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 19A** muestra el número total de lesiones en T2 hiperintensas nuevas y/o en aumento detectadas la semana 24, semana 48 y semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I y el ESTUDIO II.

La **FIG. 19B** muestra el número total de lesiones en T2 hiperintensas nuevas y/o en aumento detectadas la semana 24, semana 48 y semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 19C** muestra el número medio de lesiones en T2 hiperintensas nuevas y/o en aumento detectadas la semana 24, la semana 48 y la semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 19D** muestra el número medio de lesiones en T2 hiperintensas nuevas y/o en aumento detectadas la semana 24, semana 48 y semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 20A** muestra la tasa de pérdida de volumen cerebral desde la semana 24 hasta la semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 20B** muestra la tasa de pérdida de volumen cerebral desde la semana 24 hasta la semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 21A** muestra la tasa de pérdida de volumen cerebral desde el inicio hasta la semana 96 en pacientes que

recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 21B** muestra la tasa de pérdida de volumen cerebral desde el inicio hasta la semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 22A** muestra el número total de lesiones hipointensas en T1 nuevas por RMN la semana 24, semana 48 y semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO I.

La **FIG. 22B** muestra el número total de lesiones hipointensas en T1 nuevas por RMN la semana 24, semana 48 y semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron interferón beta-1a en el ESTUDIO II.

La **FIG. 23A** muestra reacciones relacionadas con la infusión para pacientes que recibieron IFN β -1a en el ESTUDIO I y el ESTUDIO II (agrupados).

La **FIG. 23B** muestra reacciones relacionadas con la infusión para pacientes que recibieron ocrelizumab en el ESTUDIO I y el ESTUDIO II (agrupados).

La **FIG. 24** muestra el diseño de estudio para un estudio de fase III de ocrelizumab en pacientes con esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP).

La **FIG. 25** proporciona una jerarquía estadística del estudio de fase III de ocrelizumab en pacientes con EMPP.

La **FIG. 26** muestra la disposición del paciente en la fecha de corte clínico para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 27** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 28** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 29** muestra la tasa de disminución en la velocidad de marcha, como se mide por la marcha cronometrada de 25 pies, en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo desde el inicio hasta la semana 120 para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 30** muestra la tasa de disminución en la velocidad de marcha la semana 120 en relación con el inicio en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 31** muestra el cambio en porcentaje de volumen cerebral total desde la semana 24 hasta la semana 96 en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 32** muestra el cambio en el volumen de lesión en T2 en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 33** muestra reacciones relacionadas con la infusión (IRR) en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo por exposición y gravedad hasta la fecha de corte clínico para el estudio de EMPP de fase III.

La **FIG. 34A** muestra la proporción de pacientes sin evidencia de actividad de la enfermedad (NEDA) que tomaron IFN β -1a en comparación con la proporción de pacientes con NEDA que tomaron ocrelizumab en el ESTUDIO I.

La **FIG. 34B** muestra la proporción de pacientes sin evidencia de actividad de la enfermedad (NEDA) que tomaron IFN β -1a en comparación con la proporción de pacientes con NEDA que tomaron ocrelizumab en el ESTUDIO II.

La **FIG. 35A** muestra la reducción en el cambio en porcentaje del tiempo de marcha inicial en la prueba de marcha cronometrada de 25 pies hasta la semana 120 en pacientes con lesiones de Gd⁺ antes de iniciar el estudio que recibieron ocrelizumab frente a pacientes con lesiones de Gd⁺ antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.

La **FIG. 35B** muestra la reducción en el cambio en porcentaje del tiempo de marcha inicial en la prueba de marcha cronometrada de 25 pies hasta la semana 120 en pacientes sin lesiones de Gd⁺ antes de iniciar el estudio que recibieron ocrelizumab frente a pacientes sin lesiones de Gd⁺ antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.

- La **FIG. 35C** muestra la reducción en el cambio en porcentaje del tiempo de marcha inicial en la prueba de marcha cronometrada de 25 pies hasta la semana 120 en pacientes en la población del estudio global que recibieron ocrelizumab frente a pacientes en la población del estudio global que recibieron placebo.
- La **FIG. 36A** muestra la diferencia de pérdida de volumen cerebral total desde la semana 24 hasta la semana 120 en pacientes tratados con ocrelizumab con lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio en comparación con pacientes con lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.
- La **FIG. 36B** muestra la diferencia de pérdida de volumen cerebral total desde la semana 24 hasta la semana 120 en pacientes tratados con ocrelizumab sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio en comparación con pacientes sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.
- La **FIG. 36C** muestra la tasa de pérdida de volumen cerebral total desde la semana 24 hasta la semana 120 en pacientes tratados con ocrelizumab en la población de estudio global en comparación con pacientes en la población de estudio global que recibieron placebo.
- La **FIG. 37A** muestra la diferencia en el volumen de lesión en T2 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes que recibieron ocrelizumab frente a pacientes que recibieron placebo.
- La **FIG. 37B** muestra la diferencia en el volumen de lesión en T2 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes con lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron ocrelizumab frente a pacientes con lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.
- La **FIG. 37C** muestra la diferencia en el volumen de lesión en T2 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron ocrelizumab frente a pacientes sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.
- La **FIG. 38** muestra la diferencia en la mejora informada en el cambio en la calidad de vida entre los pacientes que recibieron ocrelizumab y pacientes que recibieron IFN β -1a, como se mide por el Sumario de componente físico (PCS) del formulario breve 36 (SF-36).
- La **FIG. 39A** muestra la diferencia entre los cambios en la puntuación de EDSS desde el inicio y la semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a en el ESTUDIO I.
- La **FIG. 39B** muestra la diferencia entre los cambios en la puntuación de EDSS desde el inicio y la semana 96 en pacientes que recibieron ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a en el ESTUDIO II.
- La **FIG. 40A** muestra el cambio en la puntuación del sumario de componente físico SF-36 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes en la población de estudio global que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes en la población de estudio global que recibieron placebo.
- La **FIG. 40B** muestra el cambio en la puntuación del sumario de componente físico SF-36 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes con lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes con lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.
- La **FIG. 40C** muestra el cambio en la puntuación del sumario de componente físico SF-36 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes sin lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes sin lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.
- La **FIG. 41** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad compuesta confirmada durante al menos 12 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo para el estudio de EMPP de fase III.
- La **FIG. 42** muestra el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad compuesta confirmada durante al menos 24 semanas en pacientes tratados con ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo para el estudio de EMPP de fase III.
- La **FIG. 43** muestra la tasa de recidiva definida por protocolo anualizada la semana 96 en los siguientes subgrupos: pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada activos, pacientes sin tratamiento previo activos, pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada altamente activos y pacientes sin tratamiento previo altamente activos.
- La **FIG. 44** muestra el tiempo hasta la aparición de la CDP durante al menos 12 semanas en los siguientes subgrupos: pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada activos, pacientes sin tratamiento previo activos,

pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada altamente activos y pacientes sin tratamiento previo altamente activos.

La FIG. 45 muestra el tiempo hasta la aparición de la CDP durante al menos 24 semanas en los siguientes subgrupos: pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada activos, pacientes sin tratamiento previo activos, pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada altamente activos y pacientes sin tratamiento previo altamente activos.

La FIG. 46 muestra la proporción de pacientes en los siguientes subgrupos que tienen CDI durante al menos 12 semanas: pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada activos, pacientes sin tratamiento previo activos, pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada altamente activos y pacientes sin tratamiento previo altamente activos.

La FIG. 47 muestra el número total de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 como se detecta por RMN cerebral en los siguientes subgrupos: pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada activos, pacientes sin tratamiento previo activos, pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada altamente activos y pacientes sin tratamiento previo altamente activos.

Descripción detallada de la invención

I. Definiciones

Un "linfocito B" es un linfocito que madura dentro de la médula ósea e incluye un linfocito B indiferenciado, un linfocito B de memoria o un linfocito B efector (plasmocitos). El linfocito B en el presente documento puede ser un linfocito B normal o no maligno.

Un "marcador de superficie de linfocito B" o "antígeno de superficie de linfocito B" en el presente documento es un antígeno expresado en la superficie de un linfocito B que se puede seleccionar con un anticuerpo que se une al mismo. Los marcadores de superficie de linfocito B ejemplares incluyen los marcadores de superficie de leucocitos CD10, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD37, CD40, CD53, CD72, CD73, CD74, CDw75, CDw76, CD77, CDw78, CD79a, CD79b, CD80, CD81, CD82, CD83, CDw84, CD85 y CD86 (para las descripciones, véase The Leukocyte Antigen Facts Book, 2.^a edición. 1997, ed. Barclay *et al.* Academic Press, Harcourt Brace & Co., New York). Otros marcadores de superficie de linfocito B incluyen RP105, FcRH2, CR2 de linfocito B, CCR6, P2X5, HLA-DOB, CXCR5, FCER2, BR3, Bt_g, NAG14, SLGC16270, FcRH1, IRTA2, ATWD578, FcRH3, IRTA1, FcRH6, BCMA y 239287. El marcador de superficie de linfocito B de particular interés en el presente documento se expresa preferentemente en linfocitos B en comparación con otros tejidos sin linfocitos B de un mamífero y se puede expresar tanto en linfocitos B precursores como en linfocitos B maduros. El marcador de superficie de linfocito B preferente en el presente documento es CD20.

El antígeno "CD20", o "CD20", es una fosfoproteína no glucosilada de aproximadamente 35 kDa hallada en la superficie de más de un 90 % de los linfocitos B de sangre periférica o de órganos linfáticos. CD20 está presente tanto en linfocitos B normales como en linfocitos B malignos, pero no se expresa en células madre. Otros nombres para CD20 en la literatura incluyen "antígeno restringido a linfocitos B" y "Bp35". El antígeno CD20 se describe en Clark *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 82:1766 (1985), por ejemplo.

Un "antagonista de anticuerpo" en el presente documento es un anticuerpo que, tras unirse a un marcador de superficie de linfocito B en linfocitos B, destruye o agota los linfocitos B en un mamífero y/o interfiere con una o más funciones de linfocitos B, por ejemplo, reduciendo o evitando una respuesta humoral provocada por el linfocito B. El antagonista de anticuerpo preferentemente puede agotar linfocitos B (es decir, reducir los niveles de linfocitos B circulantes) en un mamífero tratado con el mismo. Dicha disminución se puede lograr por medio de diversos mecanismos tales como citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), inhibición de la proliferación de linfocitos B y/o inducción de la muerte de linfocitos B (por ejemplo, por medio de apoptosis).

"Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos" y "ADCC" se refieren a una reacción celular en la que células citotóxicas inespecíficas que expresan receptores de Fc (FcR) (por ejemplo, linfocitos citolíticos naturales (NK), neutrófilos y macrófagos) reconocen un anticuerpo unido en una célula diana y posteriormente provocan la lisis de la célula diana. Las células primarias para mediar en la ADCC, los linfocitos NK, expresan solo FcγRIII, mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en la tabla 3 en la página 464 de Ravetch y and Kinet, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92 (1991). Para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés se puede realizar un ensayo de ADCC *in vitro*, tal como el descrito en la patente de EE. UU. n.º 5.500.362 o 5.821.337. Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y linfocitos citolíticos naturales (NK). De forma alternativa, o adicionalmente, se puede evaluar la actividad de ADCC de la molécula de interés *in vivo*, por ejemplo, en un modelo animal tal como el divulgado en Clynes *et al. PNAS (USA)* 95:652-656 (1998).

Las "células efectoras humanas" son leucocitos que expresan uno o más FcR y realizan funciones efectoras. En algunos modos de realización, las células expresan al menos FcγRIII y realizan la función efectora de ADCC. Los ejemplos de leucocitos humanos que median en la ADCC incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC), linfocitos citolíticos naturales (NK), monocitos, linfocitos T citotóxicos y neutrófilos; siendo preferentes PBMC y linfocitos NK.

Los términos "receptor de Fc" o "FcR" se usan para describir un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. En algunos modos de realización, el FcR es un FcR humano de secuencia natural. Además, un FcR preferente es uno que se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcγRI, FcγRII y FcγRIII, incluyendo variantes alélicas y formas empalmadas de forma alternativa de estos receptores. Los receptores FcγRII incluyen FcγRIIA (un "receptor de activación") y FcγRIIB (un "receptor de inhibición"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplásmicos de los mismos. El receptor de activación FcγRIIA contiene un motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM) en su dominio citoplásmico. El receptor de inhibición FcγRIIB contiene un motivo de inhibición del inmunorreceptor basado en tirosina (ITIM) en su dominio citoplásmico (véase Daëron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). Los FcR se revisan en Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92 (1991); Capel *et al.*, *Immunomethods* 4:25-34 (1994); y de Haas *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995). Otros FcR, incluyendo los que se van a identificar en el futuro, se engloban por el término "FcR" en el presente documento. El término también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgG maternas al feto (Guyer *et al.*, *J. Immunol.* 117:587 (1976) and Kim *et al.*, *J. Immunol.* 24:249 (1994)).

"Citotoxicidad dependiente del complemento" o "CDC" se refiere a la capacidad de una molécula para lisar una diana en presencia del complemento. La vía de activación del complemento se inicia por la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) complejoado con un antígeno afin. Para evaluar la activación del complemento, se puede realizar un ensayo de CDC, por ejemplo, como se describe en Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996).

Los anticuerpos "inhibidores del crecimiento" son aquellos que evitan o reducen la proliferación de una célula que expresa un antígeno al que se une el anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo puede evitar o reducir la proliferación de linfocitos B *in vitro* y/o *in vivo*.

Los anticuerpos que "inducen la apoptosis" son aquellos que inducen la muerte celular programada, por ejemplo, de un linfocito B, como se determina por ensayos de apoptosis estándar, tales como unión de anexina V, fragmentación de ADN, encogimiento celular, dilatación de retículo endoplásmico, fragmentación celular y/o formación de vesículas de membrana (denominadas cuerpos apoptóticos).

El término "anticuerpo" en el presente documento se usa en el sentido más amplio y cubre específicamente anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos, y fragmentos de anticuerpo siempre que presenten la actividad biológica deseada.

Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, que comprende preferentemente la región de unión a antígeno del mismo. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv; díacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo monocatenario; y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

Para los propósitos en el presente documento, un "anticuerpo intacto" es uno que comprende dominios variables pesados y ligeros, así como una región Fc.

Los "anticuerpos naturales" son normalmente glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 dalton, compuestas por dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. Cada cadena ligera se enlaza a una cadena pesada por un enlace disulfuro covalente, aunque el número de enlaces disulfuro varía entre las cadenas pesadas de isotipos de inmunoglobulina diferentes. Cada cadena pesada y ligera también tiene puentes disulfuro intracatenarios espaciados regularmente. Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (V_H) seguido de una serie de dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable en un extremo (V_L) y un dominio constante en su otro extremo; el dominio constante de la cadena ligera se alinea con el primer dominio constante de la cadena pesada y el dominio variable de la cadena ligera se alinea con el dominio variable de la cadena pesada. Se cree que los residuos aminoacídicos particulares forman una interfase entre los dominios variables de la cadena ligera y de la cadena pesada.

El término "variable" se refiere al hecho de que determinadas porciones de los dominios variables difieren ampliamente en secuencia entre anticuerpos y se usan en la unión y especificidad de cada anticuerpo particular por su antígeno particular. Sin embargo, la variabilidad no se distribuye uniformemente por todos los dominios variables de los anticuerpos. Se concentra en tres segmentos denominados regiones hipervariables, en los dominios variables tanto de la cadena ligera como de la cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan regiones estructurales (FR). Los dominios variables de las cadenas

pesada y ligera naturales comprenden cada uno cuatro FR, que adoptan en gran medida una configuración de lámina β , conectadas por tres regiones hipervariables que forman bucles que conectan y, en algunos casos, forman parte de, la estructura de lámina β . Las regiones hipervariables en cada cadena se mantienen unidas en estrecha proximidad por las FR y, con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a antígeno de los anticuerpos (véase Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). Los dominios constantes no están implicados directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero presentan diversas funciones efectoras, tales como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

La digestión con papaína de anticuerpos produce dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, denominados fragmentos "Fab", cada uno con un único sitio de unión a antígeno, y un fragmento "Fc" residual, con un nombre que refleja su capacidad de cristalizar fácilmente. El tratamiento con pepsina proporciona un fragmento $F(ab')_2$ que tiene dos sitios de unión a antígeno y todavía puede reticular el antígeno.

"Fv" es el fragmento de anticuerpo mínimo que contiene un sitio de reconocimiento de antígeno y de unión a antígeno completo. Esta región consiste en un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en estrecha asociación no covalente. Es en esta configuración en la que las tres regiones hipervariables de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a antígeno en la superficie del dímero V_H - V_L . Conjuntamente, las seis regiones hipervariables confieren especificidad de unión a antígeno al anticuerpo. Sin embargo, incluso un dominio variable único (o la mitad de un Fv que comprende solo tres regiones hipervariables específicas para un antígeno) tiene la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque con una afinidad menor que todo el sitio de unión.

El fragmento Fab también contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH1) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la adición de unos pocos residuos en el extremo carboxílico del dominio CH1 de la cadena pesada, incluyendo una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Fab'-SH es la designación en el presente documento para Fab' en el que el/los residuo(s) de cisteína de los dominios constantes tiene(n) al menos un grupo tiol libre. Los fragmentos de anticuerpo $F(ab')_2$ se produjeron originalmente como pares de fragmentos Fab' que tienen cisteínas bisagra entre ellos. También son conocidos otros acoplamiento químicos de fragmentos de anticuerpo.

Las "cadenas ligeras" de anticuerpos (inmunoglobulinas) de cualquier especie de vertebrado se pueden asignar a uno de dos tipos claramente distintos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), en base a las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes.

Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, se pueden asignar anticuerpos a diferentes clases. Existen cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de ellas se pueden dividir, además, en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Los dominios constantes de la cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de anticuerpos se llaman α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

Los fragmentos de anticuerpo "Fv monocaténario" o "scFv" comprenden los dominios V_H y V_L del anticuerpo, en los que estos dominios están presentes en una única cadena polipeptídica. En algunos modos de realización, el polipéptido de Fv comprende además un conector polipeptídico entre los dominios V_H y V_L que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión a antígeno. Para una revisión de los scFv, véase Plückerthun, en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994).

El término "diacuerpos" se refiere a fragmentos de anticuerpo pequeños con dos sitios de unión a antígeno, fragmentos que comprenden un dominio variable de la cadena pesada (V_H) conectado a un dominio variable de la cadena ligera (V_L) en la misma cadena polipeptídica (V_H - V_L). Usando un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, los dominios se fuerzan a emparejarse con los dominios complementarios de otra cadena y crear dos sitios de unión a antígeno. Los diacuerpos se describen más completamente, por ejemplo, en los documentos EP 404.097; WO 93/11161; y Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993).

El término "anticuerpo monoclonal" como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo, excepto por posibles variantes que pueden surgir durante la producción del anticuerpo monoclonal, estando presentes dichas variantes en general en cantidades menores. A diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un único determinante en el antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos ya que no se contaminan por otras inmunoglobulinas. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como obtenido de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no se debe interpretar

como que requiere la producción del anticuerpo por ningún procedimiento particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales se pueden preparar por el procedimiento de hibridoma descrito por primera vez por Kohler *et al.*, *Nature*, 256:495 (1975) o se pueden preparar por procedimientos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 4.816.567). Los "anticuerpos monoclonales" también se pueden aislar de colecciones de anticuerpos de fagos usando las técnicas descritas en Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991) y Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991), por ejemplo.

Los anticuerpos monoclonales en el presente documento incluyen específicamente anticuerpos "quiméricos" (inmunoglobulinas) en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica a u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la(s) cadena(s) es idéntico a u homólogo a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de otra especie o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (patente de EE. UU. n.º 4.816.567; Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en el presente documento incluyen anticuerpos "primatizados" que comprenden secuencias de unión a antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ejemplo, mono del Viejo Mundo, tal como babuino, macaco de la India o macaco cangrejero) y secuencias de la región constante humana (patente de EE. UU. n.º 5.693.780).

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. En su mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que los residuos de una región hipervariable del receptor se reemplazan por residuos de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante), tal como ratón, rata, conejo o primate no humano, que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, los residuos de la región estructural (FR) de la inmunoglobulina humana se reemplazan por residuos no humanos correspondientes. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para refinar además el comportamiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de al menos uno, y típicamente dos, dominios variables en los que todos o sustancialmente todos los bucles hipervariables corresponden a los de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las FR son las de una secuencia de inmunoglobulina humana, excepto por la(s) sustitución/sustituciones en FR como se indica anteriormente. El anticuerpo humanizado opcionalmente también comprenderá al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina, típicamente la de una inmunoglobulina humana. Para más detalles, véanse Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-329 (1988); y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992).

El término "región hipervariable" cuando se usa en el presente documento se refiere a los residuos aminoacídicos de un anticuerpo que son responsables de la unión a antígeno. La región hipervariable comprende residuos aminoacídicos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (por ejemplo, los residuos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de la cadena ligera y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de la cadena pesada; Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) y/o los residuos de un "bucle hipervariable" (por ejemplo, los residuos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de la cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en el dominio variable de la cadena pesada; Chothia y Lesk *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). Los residuos "estructurales" o "FR" son los residuos del dominio variable diferentes de los residuos de la región hipervariable como se define en el presente documento.

Un "anticuerpo no marcado" es un anticuerpo (como se define en el presente documento) que no se conjuga con una molécula heteróloga, tal como un resto citotóxico o radiomarcador.

Puramente para los propósitos en el presente documento y a menos que se indique de otro modo, "2H7 humanizado" se refiere a un anticuerpo humanizado que se une a CD20 humano, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en el que el anticuerpo es eficaz para agotar los linfocitos B de primate *in vivo*, comprendiendo el anticuerpo en la región variable de la cadena H (V_H) del mismo al menos una secuencia CDR H3 de SEQ ID NO:12 (fig. 1B) de un anticuerpo anti-CD20 humano y sustancialmente los residuos de la región estructural (FR) consenso humana del subgrupo III de la cadena pesada humana (V_HIII). En algunos modos de realización, este anticuerpo comprende además la secuencia CDR H1 de la cadena H de SEQ ID NO:10 y la secuencia CDR H2 de SEQ ID NO:11 y, en algunos modos de realización, comprende además la secuencia CDR L1 de la cadena L de SEQ ID NO: 4, secuencia CDR L2 de SEQ ID NO:5, secuencia CDR L3 de SEQ ID NO:6 y sustancialmente los residuos de la región estructural (FR) consenso humana del subgrupo kappa de la cadena ligera humana I (V_κI), en la que la región V_H se puede unir a una región constante de la cadena de IgG humana, en la que la región puede ser, por ejemplo, IgG1 o IgG3. En algunos modos de realización, dicho anticuerpo comprende la secuencia de V_H de SEQ ID NO:8 (v16, como se muestra en la fig. 1B), comprendiendo también opcionalmente la secuencia V_L de SEQ ID NO:2 (v16, como se muestra en la fig. 1A), que puede tener las sustituciones aminoacídicas de D56A y N100A en la cadena H y S92A en la cadena L (v96). En algunos modos de realización, el anticuerpo es un anticuerpo intacto que comprende las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera y pesada de SEQ ID NO: 13

y 14, respectivamente, como se muestra en las figs. 2 y 3. En algunos modos de realización, el anticuerpo es 2H7.v31 que comprende las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera y pesada de SEQ ID NO: 13 y 15, respectivamente, como se muestra en las figs. 2 y 4. El anticuerpo en el presente documento puede comprender además al menos una sustitución aminoacídica en la región Fc que mejora la actividad ADCC y/o CDC, tal como una en la que las sustituciones aminoacídicas son S298A/E333A/K334A, y en algunos modos de realización, teniendo el 2H7.v31 la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 15 (como se muestra en la fig. 4). Cualquiera de estos anticuerpos puede comprender además al menos una sustitución aminoacídica en la región Fc que disminuye la actividad CDC, por ejemplo, que comprende al menos la sustitución K322A. Véase la patente de EE. UU. n.º 6.528.624B1 (Idusogie *et al.*).

El término "ocrelizumab" (n.º de registro CAS 637334-45-3) en el presente documento se refiere al anticuerpo monoclonal humanizado genomanipulado dirigido contra el antígeno CD20 y que comprende (a) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y (b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14. Ocrelizumab está disponible de Genentech.

Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes contaminantes de su entorno natural son materiales que interferirían con los usos de diagnóstico o terapéuticos del anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos. En algunos modos de realización, el anticuerpo se purificará (1) hasta más de un 95 % en peso de anticuerpo como se determina por el procedimiento de Lowry, y en algunos modos de realización, más de un 99 % en peso, (2) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 residuos de la secuencia de aminoácidos N terminal o interna por el uso de un secuenciador de vaso giratorio o (3) hasta homogeneidad por SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando tinción con azul de Coomassie o, en algunos modos de realización, plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes, puesto que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Habitualmente, sin embargo, el anticuerpo aislado se preparará por al menos una etapa de purificación.

Un "sujeto" o "paciente" en el presente documento es un sujeto o paciente humano. En general, el sujeto o paciente es elegible para tratamiento para esclerosis múltiple. Para los propósitos en el presente documento, dicho sujeto o paciente elegible es uno que experimenta, ha experimentado o es probable que experimente uno o más signos, síntomas u otros indicadores de esclerosis múltiple; se le ha diagnosticado con esclerosis múltiple, ya sea, por ejemplo, recién diagnosticado (con EM de "reciente aparición"), previamente diagnosticado con una nueva recidiva o agravamiento, previamente diagnosticado y en remisión, etc.; y/o tiene riesgo de desarrollar esclerosis múltiple. Una persona que padece o está en riesgo de padecer esclerosis múltiple se puede identificar opcionalmente como alguien que se ha cribado para detectar niveles elevados de linfocitos B positivos para CD20 en suero, líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o lesión/lesiones de EM y/o se criba para usar un ensayo para detectar autoanticuerpos, evaluados cualitativamente y preferentemente, cuantitativamente. Dichos autoanticuerpos ejemplares asociados con la esclerosis múltiple incluyen anticuerpos anti-proteína básica de mielina (MBP), anti-glucoproteína oligodendrocítica de mielina (MOG), anti-gangliósidos y/o anti-neurofilamentos. Dichos autoanticuerpos se pueden detectar en suero, líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o lesión de EM del sujeto. Por nivel(es) de autoanticuerpos o linfocitos B "elevado(s)" en el presente documento se entiende nivel(es) de dichos autoanticuerpos o linfocitos B que excede(n) significativamente el/los nivel(es) en un individuo sin EM.

Como se usa en el presente documento, "tratamiento" o "que trata" es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluyendo resultados clínicos. Para los propósitos de la presente invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: disminuir uno o más síntomas resultantes de la enfermedad, disminuir la extensión de la enfermedad, estabilizar la enfermedad (por ejemplo, evitar o retrasar el empeoramiento de la enfermedad), retrasar o ralentizar la progresión de la enfermedad, mejorar el estado de enfermedad, disminuir la dosis de uno o más de otros medicamentos requeridos para tratar la enfermedad y/o incrementar la calidad de vida.

Como se usa en el presente documento, "retrasar" o "ralentizar" la progresión de la esclerosis múltiple quiere decir prevenir, diferir, obstaculizar, ralentizar, estabilizar y/o posponer el desarrollo de la enfermedad. Este retraso puede tener duraciones de tiempo variables dependiendo de los antecedentes de la enfermedad y/o del individuo que se está tratando.

Como se usa en el presente documento, "en el momento de iniciar el tratamiento" se refiere al periodo de tiempo en o antes de la primera exposición a un fármaco para esclerosis múltiple, tal como un anticuerpo anti-CD20. En algunos modos de realización, "en el momento de iniciar el tratamiento" es aproximadamente cualquiera de un año, nueve meses, seis meses, tres meses, segundo mes o un mes antes de un fármaco para esclerosis múltiple, tal como un anticuerpo anti-CD20. En algunos modos de realización, "en el momento de iniciar el tratamiento" es inmediatamente anterior a la coincidencia con la primera exposición a un fármaco para esclerosis múltiple, tal como un anticuerpo anti-CD20.

Como se usa en el presente documento, "en base a" incluye (1) evaluar, determinar o medir las características del paciente como se describe en el presente documento (y preferentemente seleccionar un paciente adecuado para

recibir tratamiento; y (2) administrar el/los tratamiento(s) como se describe en el presente documento.

Un "síntoma" de EM es cualquier fenómeno mórbido o desviación de lo normal en estructura, función o sensación, experimentado por el sujeto e indicativo de EM.

"Esclerosis múltiple" se refiere a la enfermedad crónica y a menudo incapacitante del sistema nervioso central caracterizada por la destrucción progresiva de la mielina. Existen cuatro formas reconocidas internacionalmente de EM, a saber, esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP), esclerosis múltiple recidivante-remitente (EMRR), esclerosis múltiple progresiva secundaria (EMPS) y esclerosis múltiple recidivante progresiva (EMRP).

"Esclerosis múltiple progresiva" como se usa en el presente documento se refiere a esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP), esclerosis múltiple progresiva secundaria (EMPS) y esclerosis múltiple recidivante progresiva (EMRP). En algunos modos de realización, la esclerosis múltiple progresiva se caracteriza por una pérdida documentada e irreversible de la función neurológica que persiste durante ≥ 6 meses y que no se puede atribuir a una recidiva clínica.

La "esclerosis múltiple progresiva primaria" o "EMPP" se caracteriza por una progresión gradual de la enfermedad desde su aparición sin recidivas ni remisiones superpuestas raras. Puede haber periodos de nivelación de la actividad de la enfermedad y puede haber días o semanas buenos y malos. La EMPP se diferencia de la EMRR y la EMPS en que la aparición tiene lugar típicamente entre finales de los treinta y comienzos de los cuarenta, los hombres tienen la misma probabilidad que las mujeres de desarrollarla y la actividad de enfermedad inicial a menudo es en la médula espinal y no en el cerebro. La actividad de enfermedad de EMPP también se puede observar (o encontrar) en el cerebro. La EMPP es el subtipo de EM que tiene menos probabilidades de mostrar lesiones inflamatorias (potenciadas con gadolinio) en RMN. La forma progresiva primaria de la enfermedad afecta a entre un 10 y un 15 % de todas las personas con esclerosis múltiple. La EMPP se puede definir de acuerdo con los criterios en Polman *et al. Ann Neurol* 69:292-392 (2010). El sujeto con EMPP tratado en el presente documento normalmente es uno con diagnóstico probable o definitivo de EMPP.

La "esclerosis múltiple recidivante-remitente" o "EMRR" se caracteriza por recidivas (también conocidas como agravamientos) durante las que pueden aparecer nuevos síntomas y los antiguos resurgen o empeoran. Las recidivas se siguen por periodos de remisión, tiempo durante los que la persona se recupera total o parcialmente de las deficiencias adquiridas durante la recidiva. Las recidivas pueden durar días, semanas o meses y la recuperación puede ser lenta y gradual o casi instantánea. A la gran mayoría de las personas que presentan EM se les diagnostica primero EMRR. Esto es típicamente cuando tienen entre 20 y 30 años, aunque son conocidos diagnósticos mucho antes o después. El doble de mujeres que de hombres presentan este subtipo de EM. Durante las recidivas, la mielina, una vaina aislante protectora alrededor de las fibras nerviosas (neuronas) en las regiones de materia blanca del sistema nervioso central (SNC), se puede dañar en una respuesta inflamatoria por el propio sistema inmunitario del cuerpo. Esto provoca una amplia variedad de síntomas neurológicos que varían considerablemente dependiendo de qué áreas del SNC se dañan. Inmediatamente después de una recidiva, la respuesta inflamatoria disminuye y un tipo especial de célula glial en el SNC (denominada oligodendrocito) apoya la remielinización, un proceso por el que se puede reparar la vaina de mielina alrededor del axón. Es esta remielinización la que puede ser responsable de la remisión. Aproximadamente un 50 % de pacientes con EMRR se convierten en EMPS dentro de los 10 años posteriores a la aparición de la enfermedad. Después de 30 años, esta cifra aumenta a un 90 %. En cualquier momento dado, la forma recidivante-remitente de la enfermedad representa alrededor de un 55 % de todas las personas con EM.

La "esclerosis múltiple progresiva secundaria" o "EMPS" se caracteriza por una progresión constante de daño neurológico clínico con o sin recidivas superpuestas y remisiones y mesetas menores. Las personas que desarrollan EMPS habrán experimentado previamente un periodo de EMRR que puede haber durado de dos a cuarenta años o más. Cualquier recidiva y remisión superpuesta que exista tiende a disminuir con el tiempo. Desde la aparición de la fase progresiva secundaria de la enfermedad, la discapacidad comienza a avanzar mucho más rápido que durante la EMRR, aunque el progreso todavía puede ser bastante lento en algunos individuos. Después de 10 años, un 50 % de las personas con EMRR habrán desarrollado EMPS. En de 25 a 30 años, esa cifra habrá aumentado a un 90 %. La EMPS tiende a asociarse con niveles menores de formación de lesiones inflamatorias que la EMRR, pero la carga de morbilidad total continúa progresando. En cualquier momento, la EMPS representa alrededor de un 30 % de todas las personas con esclerosis múltiple.

"Esclerosis múltiple recidivante progresiva" se refiere a "EMRP" que se caracteriza por una progresión constante de daño neurológico clínico con recidivas y remisiones superpuestas. Existe recuperación significativa inmediatamente después de una recidiva, pero entre recidivas existe un empeoramiento gradual de los síntomas. La EMRP afecta a alrededor de un 5 % de todas las personas con esclerosis múltiple. Algunos neurólogos creen que la EMRP es una variante de la EMPP. La expresión "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad del anticuerpo (u otro fármaco) que es eficaz para mejorar o tratar la esclerosis múltiple. Dicha cantidad eficaz en general dará como resultado una mejora en los signos, síntomas u otros indicadores de la EM, como reducir la tasa de recidiva, evitar la discapacidad, reducir el número y/o el volumen de las lesiones de RMN cerebrales, mejorar la marcha cronometrada de 25 pies (7,65 m), ralentizar o retrasar la progresión de la enfermedad tal como extender el tiempo

hasta la progresión de la enfermedad (por ejemplo, usando la escala ampliada del estado de discapacidad, EDSS), etc.

"Exposición a anticuerpo" se refiere al contacto con o exposición a anticuerpo en el presente documento en una o más dosis administradas durante un periodo de tiempo de aproximadamente 1-20 días. Las dosis se pueden dar de una sola vez o a intervalos de tiempo fijos o irregulares durante este periodo de exposición. Las exposiciones a anticuerpo iniciales y posteriores (por ejemplo, segunda o tercera) se separan en el tiempo entre sí como se describe en detalle en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, un "intervalo" entre exposiciones a anticuerpo se refiere al periodo de tiempo entre una exposición a anticuerpo anterior y una exposición a anticuerpo posterior. Una exposición a anticuerpo de la presente divulgación puede incluir una o dos dosis. En casos donde las exposiciones a anticuerpo contienen una dosis, un intervalo entre dos exposiciones a anticuerpo se refiere a la cantidad de tiempo transcurrido entre la dosis de una exposición a anticuerpo (por ejemplo, día 1) y la dosis de la siguiente exposición a anticuerpo. Si una exposición a anticuerpo incluye dos dosis y la siguiente exposición a anticuerpo incluye una dosis, un intervalo entre las dos exposiciones a anticuerpo se refiere a la cantidad de tiempo transcurrido entre la primera de las dos dosis de la primera exposición a anticuerpo (por ejemplo, día 1) y la dosis de la siguiente exposición a anticuerpo. En casos donde cada una de las dos exposiciones a anticuerpo contiene dos dosis, un intervalo entre las exposiciones a anticuerpo se refiere a la cantidad de tiempo transcurrido entre la primera de las dos dosis de la primera exposición a anticuerpo (por ejemplo, día 1) y la primera dosis de las dos dosis de la segunda exposición a anticuerpo. Por ejemplo, si el anticuerpo para su uso en un procedimiento de la presente divulgación incluye una primera exposición a anticuerpo con dos dosis y una segunda exposición a anticuerpo con dos dosis, y la segunda exposición a anticuerpo no se proporciona hasta aproximadamente 24 semanas o 6 meses después de la primera exposición a anticuerpo, entonces el intervalo entre la primera dosis de la primera exposición a anticuerpo y la primera dosis de la segunda exposición a anticuerpo es de aproximadamente 24 semanas o 6 meses. En determinados modos de realización, la segunda exposición a anticuerpo no se proporciona hasta aproximadamente 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses después de la primera exposición a anticuerpo. En algunos modos de realización, el intervalo entre la primera dosis de la primera exposición a anticuerpo y la primera dosis de la segunda exposición a anticuerpo es de aproximadamente 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a un punto temporal entre 20 semanas y 24 semanas. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a una variación de una semana o 7 días antes o después de la semana 24. En algunos modos de realización, "aproximadamente 5-6 meses" se refiere a un punto temporal entre 5 y 6 meses.

El término "agente inmunodepresor" como se usa en el presente documento para el tratamiento complementario se refiere a sustancias que actúan para suprimir o enmascarar el sistema inmunitario del mamífero que se trata en el presente documento. Esto incluiría sustancias que suprimen la producción de citocinas, regulan por disminución o suprimen la expresión de antígenos propios o enmascaran los antígenos del MHC. Los ejemplos de dichos agentes incluyen pirimidinas 2-amino-6-aryl-5-sustituidas (véase la patente de EE. UU. n.º 4.665.077); fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE); ganciclovir, tacrólimus, glucocorticoides tales como cortisol o aldosterona, agentes antiinflamatorios tales como un inhibidor de la ciclooxigenasa, un inhibidor de la 5-lipoxigenasa o un antagonista del receptor de leucotrienos; antagonistas de purinas tales como azatioprina o micofenolato de mofetilo (MMF); agentes alquilantes tales como ciclofosfamida; bromocriptina; danazol; dapsona; glutaraldehído (que enmascara los antígenos del MHC, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 4.120.649); anticuerpos antiidiotípicos para antígenos de MHC y fragmentos de MHC; ciclosporina A; esteroides como corticoesteroides o glucocorticoesteroides o análogos de glucocorticoides, por ejemplo, prednisona, metilprednisolona y dexametasona; inhibidores de la dihidrofolato reductasa tales como metotrexato (oral o subcutáneo); hidroxiclóricoquina; sulfasalazina; leflunomida; citocinas o antagonistas del receptor de citocinas incluyendo anticuerpos anti-interferón alfa, beta o gamma, anticuerpos anti-factor de necrosis tumoral alfa (infliximab o adalimumab), inmuoahesina anti-TNF-alfa (etanercept), anticuerpos anti-factor de necrosis tumoral beta, anticuerpos anti-interleucina-2 y anticuerpos anti-receptor de IL-2; anticuerpos anti-LFA-1, incluyendo anticuerpos anti-CD11a y anti-CD18; anticuerpos anti-L3T4; globulina antilinfocítica heteróloga; anticuerpos pan-T, preferentemente anticuerpos anti-CD3 o anti-CD4/CD4a; péptido soluble que contiene un dominio de unión a LFA-3 (documento WO 90/08187 publicado el 26/7/90); estreptoquinasa; TGF-beta; estreptodornasa; ARN o ADN del huésped; FK506; RS-61443; desoxispergualina; rapamicina; receptor de linfocitos T (Cohen *et al.*, patente de EE. UU. n.º 5.114.721); fragmentos del receptor de linfocitos T (Offner *et al.*, Science, 251: 430-432 (1991); documento WO 90/11294; Laneway, *Nature*, 341: 482 (1989); y documento WO 91/01133); y anticuerpos contra receptores de linfocitos T (documento EP 340.109) tales como T10B9.

El término "agente citotóxico" como se usa en el presente documento se refiere a una sustancia que inhibe o evita la función de las células y/o provoca la destrucción de las células. El término pretende incluir isótopos radioactivos (por ejemplo, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² e isótopos radioactivos de Lu), agentes quimioterápicos y toxinas tales como toxinas de molécula pequeña o toxinas enzimáticamente activas de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de las mismas.

Un "agente quimioterápico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes

quimioterápicos incluyen agentes alquilantes, tales como tiotepa y ciclosfosfamida CYTOXAN®; sulfonatos de alquilo, tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas, tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolmelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adocolesina, carcelesina y bicelesina); criptoficinas (en particular, criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiostatina; mostazas nitrogenadas, tales como clorambucilo, clornafacina, clorofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, uramustina; nitrosoureas, tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos, tales como antibióticos enodinos (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gamma1I y calicheamicina omega1I (véase, por ejemplo, Agnew, *Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183–186 (1994))); dinemicina, incluyendo dinemicina A; bisfosfonatos, tales como clodronato; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos de antibióticos enodinos de cromoproteínas relacionados), aclacinomisininas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina ADRIAMYCIN® (incluyendo morfolinodoxorrubicina, cianomorfolinodoxorrubicina, 2-pirrolinodoxorrubicina y desoxidodoxorrubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, porfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos, tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico, tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina, tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina, tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxilfluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos, tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; antiadrenales, tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reponedor de ácido fólico, tal como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elfomitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxiiurea; lentinano; lonidamina; maitansinoides, tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; phenamet, pirarrubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidracida; procabacina; complejo de polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente, toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbacina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel TAXOL® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), formulación de paclitaxel en nanopartículas genomanipuladas con albúmina libres de Cremophor ABRAXANE™ (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois) y doxetaxel TAXOTERE® (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia); clorambucilo; gemcitabina (GEMZAR®); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino, tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina NAVELBINE®; novantrona; tenipósido; edatraxato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; CPT-11; inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides, tales como ácido retinoico; capecitabina y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

También se incluyen en esta definición agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción de las hormonas sobre tumores, tales como antiestrógenos y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (MSRE), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo tamoxifeno NOLVADEX®), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y toremifina FARESTON; inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol MEGASE®, exemestano AROMASIN®, formestanie, fadrozol, vorozol RIVISOR®, letrozol FEMARA® y anastrozol ARIMIDEX®; y antiandrógenos, tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprorrelina y goserelina; así como troxacitabina (un análogo de 1,3-dioxolano nucleósido citosina); oligonucleótidos antisentido, en particular, los que inhiben la expresión de genes en vías de señalización implicadas en la proliferación celular anómala, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras; vacunas, tales como las vacunas para el tratamiento génico, por ejemplo, vacuna ALLOVECTIN®, vacuna LEUVECTIN® y vacuna VAXID®; rIL-2 PROLEUKIN®; inhibidor de topoisomerasa 1 LURTOTECAN®; rmRH ABARELIX®; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

El término "citocina" es un término genérico para las proteínas liberadas por una población celular que actúan sobre otra célula como mediadores intercelulares. Los ejemplos de dichas citocinas son linfocinas, monocinas; interleucinas (IL), tales como IL-1, IL-1α, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-15; un factor de necrosis tumoral, tal como TNF-α o TNF-β; y otros factores polipeptídicos, incluyendo LIF y ligando kit (LK). Como se usa en el presente documento, el término citocina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo de células recombinantes y equivalentes biológicamente activos de las citocinas de secuencia natural, incluyendo entidades de moléculas pequeñas producidas sintéticamente y derivados y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.

El término "hormona" se refiere a hormonas polipeptídicas, que en general se secretan por órganos glandulares con conductos. Entre las hormonas se incluyen, por ejemplo, hormona del crecimiento tal como hormona del crecimiento humana, hormona del crecimiento humana N-metionilo y hormona del crecimiento bovina; hormona paratiroidea; tiroxina; insulina; proinsulina; relaxina; prorrelaxina; hormonas de glucoproteínas tales como hormona foliculoestimulante (FSH), hormona estimulante del tiroides (TSH) y hormona luteinizante (LH); prolactina, lactógeno placentario, péptido asociado a gonadotropina de ratón, inhibina; activina; hormona antimülleriana; y trombopoyetina. Como se usa en el presente documento, el término hormona incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivo de células recombinantes y equivalentes biológicamente activos de la hormona de secuencia natural, incluyendo entidades de moléculas pequeñas producidas sintéticamente y derivados y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.

El término "factor de crecimiento" se refiere a proteínas que promueven el crecimiento e incluyen, por ejemplo, factor de crecimiento hepático; factor de crecimiento de fibroblastos; factor de crecimiento vascular endotelial; factores de crecimiento nervioso tales como NGF- β ; factor de crecimiento derivado de plaquetas; factores de crecimiento transformantes (TGF) tales como TGF- α y TGF- β ; factores de crecimiento insulinoide I y II; eritropoyetina (EPO); factores osteoinductivos; interferones tales como interferón- α , - β y - γ ; y factores estimuladores de colonias (CSF) tales como macrófagos-CSF (M-CSF); granulocitos-macrófagos-CSF (GM-CSF); y granulocitos-CSF (G-CSF). Como se usa en el presente documento, el término factor de crecimiento incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivos celulares recombinantes y equivalentes biológicamente activos del factor de crecimiento de secuencia natural, incluyendo entidades de moléculas pequeñas producidas sintéticamente y derivados y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.

El término "integrina" se refiere a una proteína receptora que permite que las células se unan a y respondan a la matriz extracelular y está implicada en una variedad de funciones celulares tales como la cicatrización, diferenciación celular, localización de células tumorales y apoptosis. Son parte de una gran familia de receptores de adhesión celular que están implicados en las interacciones célula-matriz extracelular y célula-célula. Las integrinas funcionales consisten en dos subunidades de glucoproteína transmembranaria, denominadas alfa y beta, que se unen de forma no covalente. Todas las subunidades alfa comparten cierta homología entre sí, al igual que las subunidades beta. Los receptores siempre contienen una cadena alfa y una cadena beta. Los ejemplos incluyen Alfa6beta1, Alfa3beta1, Alfa7beta1, LFA-1, integrina alfa 4, etc. Como se usa en el presente documento, el término integrina incluye proteínas de fuentes naturales o de cultivos celulares recombinantes y equivalentes biológicamente activos de la integrina de secuencia natural, incluyendo entidades de moléculas pequeñas producidas sintéticamente y derivados y sales farmacéuticamente aceptables de las mismas.

Los ejemplos de "anticuerpos para o antagonistas de integrina" en el presente documento incluyen un anticuerpo para LFA-1; un anticuerpo para integrina alfa 4 tal como natalizumab (TYSABRI®) disponible de Biogen Idec/Elan Pharmaceuticals, Inc.; derivados de fenilalanina diazáclicos (documento WO 2003/89410); derivados de fenilalanina (documentos WO 2003/70709, WO 2002/28830, WO 2002/16329 y WO 2003/53926); derivados de ácido fenilpropiónico (documento WO 2003/10135); derivados de enamina (documento WO 2001/79173); derivados de ácido propanoico (documento WO 2000/37444); derivados de ácido alcanicoico (documento WO 2000/32575); derivados de fenilo sustituidos (patentes de EE. UU. n.º 6.677.339 y 6.348.463); derivados de aminas aromáticas (patente de EE. UU. n.º 6.369.229); y polipéptido del dominio desintegrina ADAM (US2002/0042368), anticuerpos para integrina alfavbeta3 (documento EP 633945); derivados aminoácidos bicíclicos con puente aza (documento WO 2002/02556), etc.

Para los propósitos en el presente documento, "factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa)" se refiere a una molécula de TNF-alfa humana que comprende la secuencia de aminoácidos como se describe en Pennica *et al.*, *Nature*, 312:721 (1984) o Aggarwal *et al.*, *JBC*, 260:2345 (1985).

Un "inhibidor de TNF-alfa" en el presente documento es un agente que inhibe, en cierta medida, una función biológica del TNF-alfa, en general a través de la unión a TNF-alfa y neutralizando su actividad. Los ejemplos de inhibidores de TNF contemplados específicamente en el presente documento son etanercept (ENBREL®), infliximab (REMICADE®) y adalimumab (HUMIRA™).

Los ejemplos de "fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad" o "FAME" incluyen hidroxicloroquina, sulfasalazina, metotrexato, leflunomida, etanercept, infliximab (más metotrexato oral y subcutáneo), azatioprina, D-penicilamina, oro (oral), oro (intramuscular), minociclina, ciclosporina, inmunoadsorción de proteína A estafilocócica, incluyendo sales y derivados de los mismos, etc.

Los ejemplos de "fármacos antiinflamatorios no esteroideos" o "AINE" son ácido acetilsalicílico, ibuprofeno, naproxeno, indometacina, sulindac, tolmetina, incluyendo sales y derivados de los mismos, etc.

"Corticoesteroide" se refiere a una cualquiera de las varias sustancias sintéticas o naturales con la estructura química general de esteroides que imitan o aumentan los efectos de los corticoesteroides naturales. Los ejemplos de corticoesteroides sintéticos incluyen prednisona, prednisolona (incluyendo metilprednisolona), dexametasona,

glucocorticoides y betametasona.

Un "prospecto del envase" se usa para referirse a las instrucciones incluidas habitualmente en envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones, otros productos terapéuticos que se van a combinar con el producto envasado y/o advertencias relacionadas con el uso de dichos productos terapéuticos, etc.

En el presente documento una "ficha técnica" se usa para referirse a información incluida habitualmente en envases comerciales de formulaciones farmacéuticas que incluyen recipientes tales como viales y prospectos del envase, así como otros tipos de embalaje.

La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) variaciones que se refieren a ese valor o parámetro *per se*. Por ejemplo, la descripción que hace referencia a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X".

Como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un/a", "o" y "el/la" incluyen las referencias plurales, a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. Se entiende que los aspectos y variaciones de la invención descrita en el presente documento incluyen "que consisten en" y/o "que consisten esencialmente en" aspectos y variaciones.

Se ha de entender que una, algunas o todas las propiedades de los diversos modos de realización descritos en el presente documento se pueden combinar para formar otros modos de realización de la presente invención. Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes para un experto en la técnica.

II. Tratamiento

Como se explica anteriormente, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD20, en el que el paciente tiene una mejora en la capacidad funcional después del tratamiento; en el que el anticuerpo anti-CD20 es ocrelizumab; en el que la esclerosis múltiple es una esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP) con lesiones con tinción de gadolinio en T1; y en el que la mejora de la capacidad funcional se mide por la prueba de marcha cronometrada de 25 pies (T-25FW) o puntuación EDSS. En algunos modos de realización, el procedimiento comprende además una etapa de medición de la capacidad funcional del paciente midiendo la puntuación EDSS y/o la marcha cronometrada de 25 pies (T25-FW) después de 1, 2, 3, 4 o más de 4 exposiciones de anticuerpo anti-CD20.

En determinados modos de realización, el paciente tiene una mejora de la discapacidad confirmada de al menos aproximadamente 12 semanas después del tratamiento. En determinados modos de realización, el paciente tiene una mejora de la discapacidad confirmada de al menos aproximadamente 24 semanas después del tratamiento. En determinados modos de realización, la mejora de la discapacidad confirmada se determina por la puntuación de la escala ampliada del estado de discapacidad (EDSS). En determinados modos de realización, la puntuación EDSS del paciente disminuye en al menos aproximadamente 0,1, aproximadamente 0,2, aproximadamente 0,3, aproximadamente 0,4, aproximadamente 0,5, aproximadamente 0,6, aproximadamente 0,7, aproximadamente 0,8, aproximadamente 0,9, aproximadamente 1,0 o más de aproximadamente 1,0 puntos (tal como aproximadamente 1,1, aproximadamente 1,2, aproximadamente 1,3, aproximadamente 1,4 o aproximadamente 1,5 puntos).

En determinados modos de realización, la mejora en la capacidad funcional se mantiene durante al menos aproximadamente 1 semana, al menos aproximadamente 2 semanas, al menos aproximadamente 3 semanas, al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 5 semanas, al menos aproximadamente 6 semanas, al menos aproximadamente 7 semanas, al menos aproximadamente 8 semanas, al menos aproximadamente 9 semanas, al menos aproximadamente 10 semanas, al menos aproximadamente 11 semanas, al menos aproximadamente 12 semanas, al menos aproximadamente 13 semanas, al menos aproximadamente 14 semanas, al menos aproximadamente 15 semanas, al menos aproximadamente 16 semanas, al menos aproximadamente 17 semanas, al menos aproximadamente 18 semanas, al menos aproximadamente 19 semanas, al menos aproximadamente 20 semanas, al menos aproximadamente 21 semanas, al menos aproximadamente 22 semanas, al menos aproximadamente 23 semanas, incluyendo cualquier intervalo entre estos valores. En determinados modos de realización, la mejora en la capacidad funcional se mantiene durante al menos aproximadamente 24 semanas, al menos aproximadamente 25 semanas, al menos aproximadamente 26 semanas, al menos aproximadamente 27 semanas, al menos aproximadamente 28 semanas, al menos aproximadamente 29 semanas, al menos aproximadamente 30 semanas, al menos aproximadamente 35 semanas, al menos aproximadamente 40 semanas, al menos aproximadamente 45 semanas, al menos aproximadamente 50 semanas, al menos aproximadamente 55 semanas, al menos aproximadamente 60 semanas, al menos aproximadamente 65 semanas, al menos aproximadamente 70 semanas, al menos aproximadamente 75 semanas, o más de aproximadamente 75 semanas, incluyendo cualquier intervalo entre estos valores.

En determinados modos de realización, la mejora en la capacidad funcional se mide por la prueba de marcha

cronometrada de 25 pies (T25-FW). En determinados modos de realización, el tiempo para caminar 25 pies después del inicio del tratamiento se reduce en aproximadamente 5 segundos, aproximadamente 10 segundos, aproximadamente 30 segundos, aproximadamente 60 segundos, aproximadamente 90 segundos, aproximadamente 2 minutos, aproximadamente 2,5 minutos, aproximadamente 3 minutos, aproximadamente 3,5 minutos, aproximadamente 4 minutos, aproximadamente 4,5 minutos, aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 5,5 minutos, aproximadamente 6 minutos, aproximadamente 6,5 minutos, aproximadamente 7 minutos, aproximadamente 7,5 minutos, aproximadamente 8 minutos, aproximadamente 8,5 minutos, aproximadamente 9 minutos, aproximadamente 9,5 minutos o aproximadamente 10 minutos con respecto al tiempo para caminar 25 pies inmediatamente antes de comenzar el tratamiento.

En determinados modos de realización, la mejora en la actividad funcional se demuestra por la ausencia de indicios de actividad de la enfermedad (NEDA). En determinados modos de realización, NEDA se demuestra por la ausencia de lesiones en T2 nuevas o en aumento o lesiones potenciadas con gadolinio en T1 en resonancia magnética nuclear. En determinados modos de realización, NEDA se demuestra por la ausencia de progresión. En determinados modos de realización, NEDA se demuestra por la falta de empeoramiento de EDSS. En determinados modos de realización, NEDA se define como: sin recaídas definidas por protocolo, sin acontecimientos de CDP, sin lesiones en T2 nuevas o en aumento, y sin lesiones en T1 potenciadas con gadolinio. En determinados modos de realización, NEDA se mantiene durante aproximadamente al menos aproximadamente 1 semana, al menos aproximadamente 2 semanas, al menos aproximadamente 3 semanas, al menos aproximadamente 4 semanas, al menos aproximadamente 5 semanas, al menos aproximadamente 6 semanas, al menos aproximadamente 7 semanas, al menos aproximadamente 8 semanas, al menos aproximadamente 9 semanas, al menos aproximadamente 10 semanas, al menos aproximadamente 11 semanas, al menos aproximadamente 12 semanas, al menos aproximadamente 13 semanas, al menos aproximadamente 14 semanas, al menos aproximadamente 15 semanas, al menos aproximadamente 16 semanas, al menos aproximadamente 17 semanas, al menos aproximadamente 18 semanas, al menos aproximadamente 19 semanas, al menos aproximadamente 20 semanas, al menos aproximadamente 21 semanas, al menos aproximadamente 22 semanas, al menos aproximadamente 23 semanas, incluyendo cualquier intervalo entre estos valores. En determinados modos de realización, la mejora en la capacidad funcional se mantiene durante al menos aproximadamente 24 semanas, al menos aproximadamente 25 semanas, al menos aproximadamente 26 semanas, al menos aproximadamente 27 semanas, al menos aproximadamente 28 semanas, al menos aproximadamente 29 semanas, al menos aproximadamente 30 semanas, al menos aproximadamente 35 semanas, al menos aproximadamente 40 semanas, al menos aproximadamente 45 semanas, al menos aproximadamente 50 semanas, al menos aproximadamente 55 semanas, al menos aproximadamente 60 semanas, al menos aproximadamente 65 semanas, al menos aproximadamente 70 semanas, al menos aproximadamente 75 semanas, o más de aproximadamente 75 semanas, incluyendo cualquier intervalo entre estos valores.

Como se explica anteriormente, la invención se refiere a un anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple, como se define además en el presente documento anteriormente y en las reivindicaciones, en el que el paciente tiene lesiones con tinción de gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio (es decir, antes de comenzar el tratamiento).

En determinados modos de realización, el paciente no se ha tratado previamente con otro tratamiento para esclerosis múltiple (es decir, un "paciente sin tratamiento previo"). En determinados modos de realización, el paciente sin tratamiento previo experimentó al menos 2 recaídas en 2 años antes de comenzar el tratamiento. En determinados modos de realización, el paciente sin tratamiento previo experimentó al menos 1 recaída en el último año antes de comenzar el tratamiento.

En determinados modos de realización, el paciente es un paciente con respuesta al tratamiento inadecuada para otro tratamiento para esclerosis múltiple. En determinados modos de realización, el paciente que es un paciente con respuesta al tratamiento inadecuada se ha tratado previamente con interferón beta-1a o acetato de glatirámico durante al menos 1 año. En determinados modos de realización, el paciente que es un paciente con respuesta al tratamiento inadecuada ha experimentado al menos una recaída o experimentado al menos 1 lesión potenciada con gadolinio inicial mientras se trataba con otro tratamiento para esclerosis múltiple.

Como se explica anteriormente, el paciente tiene esclerosis múltiple progresiva primaria. En determinados modos de realización, el paciente tiene menos de 18 años de edad. En determinados modos de realización, el paciente tiene entre 18 y 55 años de edad. En determinados modos de realización, el paciente es mayor de 55 años de edad. En determinados modos de realización, el paciente tiene un diagnóstico de esclerosis múltiple progresiva primaria de acuerdo con los criterios de McDonald revisados en 2005 (Polman *et al.* (2011) "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the 'McDonald criteria'". *Ann Neurol* 58, 840-846). Adicionalmente o de forma alternativa, en determinados modos de realización, el paciente tiene una puntuación de escala ampliada del estado de discapacidad (EDSS) de 3 a 6,5 puntos. Adicionalmente o de forma alternativa, en determinados modos de realización, el paciente tiene una puntuación de al menos 2,0 en el componente de funciones piramidales de la escala de sistemas funcionales (FSS). Adicionalmente o de forma alternativa, en determinados modos de realización, el paciente tiene una antecedentes o presencia documentada en el cribado de índice de IgG elevado

en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o una o más bandas oligoclonales de IgG detectadas por enfoque isoelectrónico en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR). Adicionalmente o de forma alternativa, en determinados modos de realización, el paciente no tiene antecedentes de esclerosis múltiple remitente-recidivante (EMRR). Adicionalmente o de forma alternativa, en determinados modos de realización, el paciente no tiene antecedentes de esclerosis múltiple progresiva secundaria (EMPS). Adicionalmente o de forma alternativa, en determinados modos de realización, el paciente tiene antecedentes de esclerosis múltiple recidivante progresiva (EMRP).

En determinados modos de realización, el paciente ha recibido tratamiento previo con tratamientos dirigidos a linfocitos B (por ejemplo, rituximab, ocrelizumab, atacicept, belimumab u ofatumumab). En determinados modos de realización, el paciente no ha tenido tratamiento previo con tratamientos dirigidos a linfocitos B (por ejemplo, rituximab, ocrelizumab, atacicept, belimumab u ofatumumab).

En algunos modos de realización, "progresión de discapacidad confirmada" o "CDP" se refiere a un incremento de al menos 1,0 punto de la puntuación EDSS de referencia en pacientes con una puntuación de referencia de 5,5 o menos, o un incremento de 0,5 puntos en pacientes con una puntuación de referencia superior a 5,5, durante las 96 semanas, en el que los incrementos en la EDSS se confirmaron en una visita programada regularmente al menos 12 semanas después del empeoramiento neurológico inicial.

En algunos modos de realización, "mejora de discapacidad confirmada" o "CDI" se refiere a una reducción en la puntuación EDSS de al menos 1,0 en comparación con el valor de referencia en pacientes con una puntuación EDSS de referencia de 5,5 o menos, o una reducción de 0,5 puntos en pacientes con una puntuación EDSS de referencia por encima de 5,5.

En algunos modos de realización, la atrofia cerebral se refiere a uno o más de los siguientes: pérdida axónica en el cerebro, pérdida tisular dentro de lesiones de sustancia gris o lesiones de sustancia blanca, degeneración walleriana en vías relacionadas con las lesiones o carga de lesión. En determinados modos de realización, atrofia cerebral se refiere a una disminución en el volumen cerebral completo. En determinados modos de realización, atrofia cerebral se refiere a una disminución en el volumen de una o más de las estructuras del cerebro (incluyendo, pero sin limitarse a, el cerebro, el cerebelo, el tálamo, neocórtex frontotemporal, tronco encefálico, hipocampo, lóbulo parietal y/o el hipotálamo). En determinados modos de realización, atrofia cerebral se refiere al adelgazamiento cortical en la circunvolución precentral, circunvolución frontal superior, tálamo y/o putamen. En determinados modos de realización, atrofia cerebral se refiere a una pérdida de al menos aproximadamente un 0,4 %, al menos aproximadamente un 0,5 %, al menos aproximadamente un 0,6 % o al menos un 0,7 % de volumen cerebral por año. Los detalles adicionales con respecto a la atrofia cerebral se detallan, por ejemplo, en Riley *et al.* (2012) *Expert Rev Neurother* 12(3), 323-333.

En algunos modos de realización, el paciente o sujeto tiene esclerosis múltiple altamente activa. En algunos modos de realización, "esclerosis múltiple altamente activa" en pacientes sin tratamiento previo se refiere a pacientes que no se han tratado previamente con otro tratamiento para esclerosis múltiple y que han experimentado al menos 2 recaídas en el último año antes de la aleatorización, y (a) al menos 1 lesión de gadolinio de referencia o bien (b) incremento en el recuento de lesiones en T2 en la visita inicial (cambiando categóricamente de 0-5 a 6-9 lesiones o de 6-9 lesiones a > 9 lesiones) en comparación con una RMN previa. En algunos modos de realización, "esclerosis múltiple altamente activa" en pacientes que se han tratado previamente con otro tratamiento para esclerosis múltiple y que han tenido al menos una recaída en el año previo y (a) tienen al menos nueve lesiones en T2 o bien (b) tienen al menos una lesión de gadolinio antes de iniciar el estudio. Como se explica anteriormente, de acuerdo con la presente invención, el paciente tiene esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP) con lesiones con tinción de gadolinio en T1.

En determinados modos de realización, un nivel de referencia en un paciente se refiere al nivel antes de la administración de o tratamiento con un anticuerpo anti-CD20 al paciente, por ejemplo, aproximadamente 2 meses, aproximadamente 1,5 meses, aproximadamente 1 mes, aproximadamente 30 días, aproximadamente 25 días, aproximadamente 21 días, aproximadamente 14 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días, aproximadamente 1 día antes de la administración de o tratamiento con un anticuerpo anti-CD20 al paciente.

En determinados modos de realización, el paciente mantiene la capacidad de montar una respuesta inmunitaria humoral a un antígeno durante el tratamiento. En determinados modos de realización, el antígeno es un antígeno de las paperas, un antígeno de rubéola, un antígeno de varicela, un antígeno de *S. pneumoniae*, un antígeno de toxoide tetánico, un antígeno neumocócico o un antígeno de gripe.

El anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento como se describe en el presente documento puede englobar cualquier combinación de los modos de realización descritos en el presente documento.

III. Dosificaciones

De acuerdo con algunos modos de realización del anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento como se describe en el presente documento, el procedimiento comprende administrar una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD20 al paciente con esclerosis múltiple para proporcionar una exposición a anticuerpo inicial de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos, tal como aproximadamente 0,6 gramos o aproximadamente 1,0 gramos) seguido de una segunda exposición a anticuerpo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos, tal como aproximadamente 0,6 gramos o aproximadamente 1,0 gramos), no proporcionándose la segunda exposición a anticuerpo hasta de aproximadamente 16 a aproximadamente 60 semanas desde la exposición a anticuerpo inicial. Para los propósitos de la presente invención, la segunda exposición a anticuerpo es la siguiente vez que se trata al paciente con el anticuerpo anti-CD20 después de la exposición a anticuerpo inicial, sin que intervenga tratamiento o exposición a anticuerpo anti-CD20 entre las exposiciones inicial y la segunda. En algunos modos de realización, la exposición a anticuerpo inicial y/o la segunda exposición a anticuerpo es aproximadamente cualquiera de 0,3 gramos, 0,4 gramos, 0,5 gramos, 0,6 gramos, 0,7 gramos, 0,8 gramos, 0,9 gramos o 1,0 gramo.

El intervalo entre las exposiciones a anticuerpo inicial y segunda o posterior se puede medir a partir de la primera dosis de la exposición a anticuerpo inicial.

En algunos modos de realización, las exposiciones a anticuerpo tienen aproximadamente 24 semanas o 6 meses de diferencia; o aproximadamente 48 semanas o 12 meses de diferencia. En algunos modos de realización, las exposiciones a anticuerpo tienen aproximadamente 20-24 semanas o aproximadamente 5-6 meses de diferencia. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a un punto temporal entre 20 semanas y 24 semanas. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a una variación de una semana o 7 días antes o después de la semana 24. En algunos modos de realización, "aproximadamente 5-6 meses" se refiere a un punto temporal entre 5 y 6 meses.

En un modo de realización, la segunda exposición a anticuerpo no se proporciona hasta de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 semanas desde la exposición inicial, opcionalmente seguido de una tercera exposición a anticuerpo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos), no administrándose la tercera exposición hasta de aproximadamente 46 a 60 semanas (preferentemente de aproximadamente 46 a 54 semanas) desde la exposición inicial, y a continuación, en algunos modos de realización, no se proporciona exposición a anticuerpo adicional hasta al menos aproximadamente 70-75 semanas desde la exposición inicial. En algunos modos de realización, la tercera exposición a anticuerpo es aproximadamente cualquiera de 0,3 gramos, 0,4 gramos, 0,5 gramos, 0,6 gramos, 0,7 gramos, 0,8 gramos, 0,9 gramos o 1,0 gramo.

En un modo de realización alternativo, la segunda exposición a anticuerpo no se proporciona hasta de aproximadamente 46 a 60 semanas desde la exposición inicial, y las exposiciones a anticuerpo posteriores, si las hay, no se proporcionan hasta de aproximadamente 46 a 60 semanas desde la exposición a anticuerpo previa.

De acuerdo con algunos modos de realización del anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento como se describe en el presente documento, el procedimiento comprende administrar una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD20 al paciente con esclerosis múltiple para proporcionar una exposición a anticuerpo inicial de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos, tal como aproximadamente 0,6 gramos o aproximadamente 1,0 gramos) seguido de una segunda exposición a anticuerpo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos, tal como aproximadamente 0,6 gramos o aproximadamente 1,0 gramos), no proporcionándose la segunda exposición a anticuerpo hasta de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 semanas desde la exposición a anticuerpo inicial, seguido de una tercera exposición a anticuerpo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos, tal como aproximadamente 0,6 gramos o aproximadamente 1,0 gramos), no proporcionándose la tercera exposición a anticuerpo hasta de aproximadamente 46 a aproximadamente 54 semanas desde la exposición inicial, seguido de una cuarta exposición a anticuerpo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos, tal como aproximadamente 0,6 gramos o aproximadamente 1,0 gramos), no proporcionándose la cuarta exposición a anticuerpo hasta de aproximadamente 70 a aproximadamente 75 semanas desde la exposición inicial.

En determinados modos de realización, la cuarta exposición a anticuerpo va seguida de una o más exposiciones a anticuerpo de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4 gramos (preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos, tal como aproximadamente 0,6 gramos o aproximadamente 1,0 gramos). En determinados modos de realización, cada exposición a anticuerpo posterior es de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 semanas desde la exposición previa.

Para los propósitos de la presente invención, la/cada exposición posterior es la siguiente vez que el paciente se trata con el anticuerpo anti-CD20 después de la exposición a anticuerpo inicial, no habiendo ningún tratamiento de

o exposición a anticuerpo anti-CD20 intermedio entre, por ejemplo, la inicial y segunda exposiciones, la segunda y tercera exposiciones, o la tercera y cuarta exposiciones, etc. En algunos modos de realización, la inicial, segunda, tercera, cuarta y/o posterior exposición a anticuerpo es de aproximadamente cualquiera de 0,3 gramos, 0,4 gramos, 0,5 gramos, 0,6 gramos, 0,7 gramos, 0,8 gramos, 0,9 gramos o 1,0 gramo.

Una cualquiera o más de las exposiciones a anticuerpo en el presente documento se pueden proporcionar al paciente como una dosis única de anticuerpo, o como dos dosis separadas del anticuerpo (es decir, constituyendo una primera y segunda dosis). El número particular de dosis (ya sea una o dos) empleadas para cada exposición a anticuerpo puede depender, por ejemplo, del tipo de EM tratada, de si se emplea y qué tipo de segundo medicamento, y el procedimiento y frecuencia de administración. Cuando se administran dos dosis separadas, la segunda dosis se administra preferentemente de aproximadamente 3 a 17 días, más preferentemente de aproximadamente 6 a 16 días, y lo más preferentemente de aproximadamente 13 a 16 días desde el momento en que se administró la primera dosis. En algunos modos de realización, cuando se administran dos dosis separadas, la segunda dosis es en aproximadamente 14 días (tal como 13 días o 15 días). En algunos modos de realización, "aproximadamente 14 días" se refiere a una variación de 1 día antes o después del día 14. Cuando se administran dos dosis separadas, la primera y segunda dosis del anticuerpo es preferentemente de aproximadamente 0,3 a 1,5 gramos, más preferentemente de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,0 gramos. En algunos modos de realización, cuando se administran dos dosis separadas, la primera y segunda dosis del anticuerpo es aproximadamente cualquiera de 0,3 gramos, 0,4 gramos, 0,5 gramos o 0,6 gramos. En algunos modos de realización, la exposición a ocrelizumab inicial comprende una primera dosis y una segunda dosis de ocrelizumab, en la que la primera dosis y segunda dosis de ocrelizumab es de aproximadamente 0,3 gramos. En algunos modos de realización, la segunda exposición a ocrelizumab comprende una dosis única de ocrelizumab, en la que la dosis única de ocrelizumab es de 0,6 gramos.

En un modo de realización, al paciente se le proporcionan al menos aproximadamente tres, al menos aproximadamente cuatro o al menos aproximadamente cinco exposiciones del anticuerpo, por ejemplo, de aproximadamente 3 a 60 exposiciones, y más en particular de aproximadamente 3 a 40 exposiciones, más en particular, de aproximadamente 3 a 20 exposiciones. En algunos modos de realización del anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento como se describe en el presente documento, el procedimiento comprende además proporcionar entre aproximadamente una y aproximadamente tres exposiciones a ocrelizumab posteriores. En algunos modos de realización, dichas exposiciones se administran a intervalos cada una de aproximadamente 24 semanas o 6 meses, o 48 semanas o 12 meses. En determinados modos de realización, un intervalo se acorta aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 3,5 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 2,5 semanas, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 1,5 semanas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días o aproximadamente 1 día. En determinados modos de realización, más de 1 intervalo se acorta aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 3,5 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 2,5 semanas, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 1,5 semanas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días o aproximadamente 1 día. En determinados modos de realización, un intervalo se alarga aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 3,5 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 2,5 semanas, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 1,5 semanas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días o aproximadamente 1 día. En determinados modos de realización, más de 1 intervalo se alarga aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 3,5 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 2,5 semanas, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 1,5 semanas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días o aproximadamente 1 día. En determinados modos de realización, más de 1 intervalo se acorta aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 3,5 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 2,5 semanas, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 1,5 semanas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días o aproximadamente 1 día o se alarga aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 3,5 semanas, aproximadamente 3 semanas, aproximadamente 2,5 semanas, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 1,5 semanas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 6 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 2 días o aproximadamente 1 día.

En un modo de realización, cada exposición a anticuerpo se proporciona como una dosis única del anticuerpo. En un modo de realización alternativo, cada exposición a anticuerpo se proporciona como dos dosis separadas del anticuerpo. En algunos modos de realización, algunas exposiciones se proporcionan como una dosis única o como dos dosis separadas.

Como se explica anteriormente, el anticuerpo que se va a usar de acuerdo con la invención es ocrelizumab. En el presente documento se divulgan otros anticuerpos anti-CD20, tales como rituximab, 2H7 humanizado (por ejemplo, que comprende las secuencias de dominio variable en SEQ ID NO: 2 y 8) o 2H7 humanizado que comprende las secuencias de dominio variable en SEQ ID NO: 23 y 24, o huMax-CD20 (Genmab). De acuerdo con la presente invención, el anticuerpo es ocrelizumab (que comprende (a) una cadena ligera que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:13 y (b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:14).

En un modo de realización, el paciente nunca se ha tratado previamente con fármaco(s), tal como agente(s) inmunodepresor(es), para tratar la esclerosis múltiple y/o nunca se ha tratado previamente con un anticuerpo para un marcador de superficie de linfocito B (por ejemplo, nunca se ha tratado previamente con un anticuerpo para CD20).

El anticuerpo se administra por cualquier medio adecuado, incluyendo administración parenteral, tópica, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar, intranasal y/o intralesional. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intraarterial, intraperitoneal o subcutánea. También se contempla la administración intratecal (véase, por ejemplo, la solicitud de patente de EE. UU. n.º 2002/0009444, Grillo-Lopez, A, relacionada con el suministro intratecal de un anticuerpo para CD20). Además, el anticuerpo se puede administrar adecuadamente por infusión pulsada, por ejemplo, con dosis decrecientes del anticuerpo. En algunos modos de realización, la dosificación se administra por vía intravenosa, subcutánea o intratecal. En algunos modos de realización, la dosificación se administra por infusión/infusiones intravenosa(s).

En determinados modos de realización, el paciente se premedica antes de la infusión con el anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica con metilprednisolona (o un equivalente) aproximadamente 30 minutos antes de cada infusión de anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica con 100 mg i.v. de metilprednisolona (o un equivalente) aproximadamente 30 minutos antes de cada infusión de anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica adicionalmente (o de forma alternativa) con un fármaco antihistamínico (por ejemplo, difenhidramina) aproximadamente 30-60 minutos antes de cada infusión de anticuerpo anti-CD20. En determinados modos de realización, el paciente se premedica adicionalmente (o de forma alternativa) con un antipirético (por ejemplo, acetaminofeno/paracetamol).

Aunque el anticuerpo para CD20 puede ser el único fármaco administrado al paciente para tratar la esclerosis múltiple, opcionalmente se puede administrar un segundo medicamento, tal como un agente citotóxico, agente quimioterápico, agente inmunodepresor, citocina, anticuerpo para o antagonista de citocina, factor de crecimiento, hormona, integrina, anticuerpo para o antagonista de integrina (por ejemplo, un anticuerpo para LFA-1, o un anticuerpo para integrina alfa 4 tal como natalizumab (TYSABRI®) disponible de Biogen Idec/Elan Pharmaceuticals, Inc), etc., con el anticuerpo que se une a un marcador de superficie de linfocito B (por ejemplo, con el anticuerpo para CD20).

En algunos modos de realización de politerapia, el anticuerpo se combina con un fármaco de clase interferón tal como IFN-beta-1a (REBIF® y AVONEX®) o IFN-beta-1b (BETASERON®); un oligopéptido tal como un acetato de glatirámico (COPAXONE®); un agente citotóxico tal como mitoxantrona (NOVANTRONE®), metotrexato, ciclofosfamida, clorambucilo, azatioprina; inmunoglobulina intravenosa (gammaglobulina); tratamiento reductor de linfocitos (por ejemplo, mitoxantrona, ciclofosfamida, alemtuzumab (Campath®, LEMTRADA™), anti-CD4, cladribina, irradiación corporal total, trasplante de médula ósea); corticoesteroide (por ejemplo, metilprednisolona, prednisona, dexametasona o glucocorticoides), incluyendo tratamiento con corticoesteroides sistémicos; tratamiento inmunodepresor no reductor de linfocitos (por ejemplo, micofenolato de mofetilo (MMF) o ciclosporina); fármaco reductor de colesterol de la clase "estatina", que incluye cerivastatina (BAYCOL®), fluvastatina (LESCOL®), atorvastatina (LIPITOR®), lovastatina (MEVACOR®), pravastatina (PRAVACHOL®), simvastatina (ZOCOR®); estradiol; testosterona (opcionalmente en dosificaciones elevadas; Stuve *et al. Neurology* 8:290-301 (2002)); tratamiento de reemplazo de hormonas; tratamiento para los síntomas secundarios o relacionados con EM (por ejemplo, espasticidad, incontinencia, dolor, fatiga); un inhibidor de TNF; fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (FAME); fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE); plasmaféresis; levotiroxina; ciclosporina A; análogo de somatostatina; antagonista de receptor de citocina o citocina; antimetabolito; agente inmunodepresor; cirugía rehabilitadora; yodo radioactivo; tiroidectomía; otro antagonista/anticuerpo de superficie de linfocito B; etc.

El segundo medicamento se administra con la exposición inicial y/o exposiciones posteriores del anticuerpo para CD20, dicha administración combinada incluye coadministración, usando formulaciones separadas o una única formulación farmacéutica, y administración consecutiva en cualquier orden, en el que preferentemente hay un periodo de tiempo mientras que ambos (o todos los) agentes activos ejercen simultáneamente sus actividades biológicas.

Además de la administración de anticuerpos al paciente, la presente solicitud contempla la administración de anticuerpos por tratamiento génico. Dicha administración de ácido nucleico que codifica el anticuerpo se engloba por la expresión administrar una "cantidad eficaz" de un anticuerpo. Véase, por ejemplo, el documento WO96/07321 publicado el 14 de marzo de 1996 relacionado con el uso de tratamiento génico para generar anticuerpos intracelulares.

Existen dos enfoques principales para hacer llegar el ácido nucleico (opcionalmente contenido en un vector) a las células del paciente; *in vivo* y *ex vivo*. Para suministro *in vivo*, el ácido nucleico se inyecta directamente en el

paciente, normalmente en el sitio donde se requiere el anticuerpo. Para tratamiento *ex vivo*, se retiran las células del paciente, se introduce el ácido nucleico en estas células aisladas y se administran las células modificadas al paciente directamente o bien, por ejemplo, encapsuladas dentro de membranas porosas que se implantan en el paciente (véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.ºs 4.892.538 y 5.283.187). Existe una variedad de técnicas disponibles para introducir ácidos nucleicos en células viables. Las técnicas varían dependiendo de si el ácido nucleico se transfiere a células cultivadas *in vitro*, o *in vivo* en las células del huésped deseado. Técnicas adecuadas para la transferencia de ácido nucleico a células de mamífero *in vitro* incluyen el uso de liposomas, electroporación, microinyección, fusión celular, DEAE-dextrano, procedimiento de precipitación con fosfato de calcio, etc. Un vector usado comúnmente para suministro *ex vivo* del gen es un retrovirus.

En algunos modos de realización, las técnicas de transferencia de ácido nucleico *in vivo* incluyen la transfección con vectores víricos (tales como adenovirus, virus del herpes simple I o virus adenoasociados) y sistemas basados en lípidos (los lípidos útiles para la transferencia del gen mediada por lípidos son DOTMA, DOPE y DC-Chol, por ejemplo). En algunas situaciones, es deseable proporcionar a la fuente de ácido nucleico un agente que se dirija a las células diana, tal como un anticuerpo específico para una proteína de membrana de superficie celular o la célula diana, un ligando para un receptor en la célula diana, etc. Cuando se emplean liposomas, se pueden usar proteínas que se unen a una proteína de membrana de superficie celular asociada con la endocitosis para dirigir y/o facilitar la absorción, por ejemplo, proteínas de la cápside o fragmentos de las mismas trópicas para un tipo celular particular, anticuerpos para proteínas que se someten a internalización en el ciclo y proteínas que se dirigen a la localización intracelular y potencian la semivida intracelular. La técnica de endocitosis mediada por receptor se describe, por ejemplo, por Wu *et al.*, *J. Biol. Chem.* 262:4429-4432 (1987); y Wagner *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:3410-3414 (1990). Para una revisión de los protocolos de marcado génico y tratamiento génico actualmente conocidos, véase Anderson *et al.*, *Science* 256:808-813 (1992). Véase también el documento WO 93/25673 y las referencias citadas en el mismo.

IV. Anticuerpos y su producción

El anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de la presente invención es un anticuerpo que se une a un marcador de superficie de linfocito B, especialmente uno que se une a CD20, a saber, ocrelizumab. En consecuencia, se describirán aquí procedimientos para generar ocrelizumab y otros anticuerpos anti-CD20 (de referencia). Como se explica anteriormente, el anticuerpo anti-CD20 que se va a usar de acuerdo con la invención es ocrelizumab. La preparación de otros anticuerpos se divulga en el presente documento como referencia.

En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 para su uso en los procedimientos descritos en el presente documento se produce por un procedimiento que comprende expresar un ácido nucleico que codifica un anticuerpo humanizado que comprende las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y ligera de SEQ ID NO: 14 o 13, respectivamente, en una célula huésped, y recuperar el anticuerpo humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo expresado en la célula huésped. En algunos modos de realización, la célula huésped es una célula de mamífero (por ejemplo, una célula CHO), una célula de insecto o una célula de planta. En algunos modos de realización, la célula huésped es una célula bacteriana.

Los procedimientos de producción de un anti-CD20 se describen con más detalle, por ejemplo, en la patente de EE. UU. n.º 7.799.900.

El marcador de superficie de linfocito B que se va a usar para la producción de, o el cribado de, anticuerpos puede ser, por ejemplo, una forma soluble del marcador o una porción del mismo, que contiene el epítipo deseado. De forma alternativa, o adicionalmente, las células que expresan el marcador en su superficie celular se pueden usar para generar, o cribar, anticuerpos. Otras formas del marcador de superficie de linfocito B útiles para generar anticuerpos serán evidentes para los expertos en la técnica.

Sigue una descripción de técnicas ejemplares para la producción de los anticuerpos mencionados en el presente documento.

(i) Anticuerpos policlonales

Los anticuerpos policlonales se producen preferentemente en animales por múltiples inyecciones subcutáneas (s.c.) o intraperitoneales (i.p.) del antígeno pertinente y un adyuvante. Puede ser útil conjugar el antígeno pertinente con una proteína que es inmunógena en la especie que se va a inmunizar, por ejemplo, hemocianina de lapa californiana, seroalbúmina, tiroglobulina bovina o inhibidor de tripsina de soja, usando un agente bifuncional o derivatizante, por ejemplo, éster maleimidobenzoilsulfosuccinimida (conjugación a través de residuos cisteína), *N*-hidroxysuccinimida (a través de residuos lisina), glutaraldehído, anhídrido succínico, SOCl₂ o R¹N=C=NR, donde R y R¹ son grupos alquilo diferentes.

Los animales se inmunizan frente al antígeno, conjugados inmunógenos o derivados combinando, por ejemplo, 100 µg o 5 µg de la proteína o conjugado (para conejos o ratones, respectivamente) con 3 volúmenes de adyuvante completo de Freund e inyectando la solución por vía intradérmica en múltiples sitios. Un mes después, se refuerza

a los animales con de 1/5 a 1/10 de la cantidad original de péptido o conjugado en adyuvante completo de Freund por inyección subcutánea en múltiples sitios. De siete a 14 días después, se extrae sangre de los animales y el suero se somete a ensayo para determinar el valor de anticuerpos. Se refuerza a los animales hasta la meseta del valor. En algunos modos de realización, se refuerza al animal con el conjugado del mismo antígeno, pero conjugado con una proteína diferente y/o a través de un reactivo de reticulación diferente. También se pueden preparar conjugados en cultivo de células recombinantes como fusiones de proteínas. También se usan adecuadamente agentes de agregación, tales como alumbre, para potenciar la respuesta inmunitaria.

(ii) Anticuerpos monoclonales

Se obtienen anticuerpos monoclonales de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se unen al mismo epítipo excepto por posibles variantes que surgen durante la producción del anticuerpo monoclonal, estando presentes en general dichas variantes en cantidades menores. Por tanto, el modificador "monoclonal" indica que el carácter del anticuerpo no es una mezcla de anticuerpos discretos o policlonales.

Por ejemplo, se pueden preparar los anticuerpos monoclonales usando el procedimiento de hibridoma descrito por primera vez por Kohler *et al.*, *Nature* 256:495 (1975), o se pueden preparar por procedimientos de ADN recombinante (patente de EE. UU n.º 4.816.567).

En el procedimiento de hibridoma, un ratón u otro animal huésped apropiado, tal como un hámster, se inmuniza como se describe en el presente documento para provocar linfocitos que producen o pueden producir anticuerpos que se unirán específicamente a la proteína usada para la inmunización. De forma alternativa, los linfocitos se pueden inmunizar *in vitro*. A continuación, se fusionan los linfocitos con células de mieloma usando un agente de fusión adecuado, tal como polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)).

Las células de hibridoma preparadas de este modo se siembran y cultivan en un medio de cultivo adecuado que contiene preferentemente una o más sustancias que inhiben el crecimiento o la supervivencia de las células de mieloma originales no fusionadas. Por ejemplo, si las células de mieloma originales carecen de la enzima hipoxantina guanina fosforibosiltransferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas incluirá típicamente hipoxantina, aminopterina y timidina ("medio HAT"), sustancias que impiden el crecimiento de células carentes de HGPRT.

En algunos modos de realización, las células de mieloma son aquellas que se fusionan eficazmente, soportan una producción de alto nivel estable de anticuerpo por las células productoras de anticuerpo seleccionadas y son sensibles a un medio tal como medio HAT. Entre estas, en algunos modos de realización, las líneas celulares de mieloma son líneas de mieloma murino, tales como las derivadas de tumores de ratón MOPC-21 y MPC-11 disponibles de Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California EE. UU., y células SP-2 o X63-Ag8-653 disponibles de American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, EE. UU. También se han descrito líneas celulares de mieloma humano y heteromieloma ratón-humano para la producción de anticuerpos monoclonales humanos (Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984); Brodeur *et al.*, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987)).

El medio de cultivo en el que se cultivan las células de hibridoma se somete a ensayo para determinar la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno. En algunos modos de realización, la especificidad de unión de anticuerpos monoclonales producidos por células de hibridoma se determina por inmunoprecipitación o por un ensayo de unión *in vitro*, tal como radioinmunoanálisis (RIA) o ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA).

La afinidad de unión del anticuerpo monoclonal se puede determinar, por ejemplo, por el análisis de Scatchard de Munson *et al.*, *Anal. Biochem.* 107:220 (1980).

Después de que se identifican células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y/o actividad deseadas, los clones se pueden subclonar por procedimientos de dilución limitante y cultivar por procedimientos estándar (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Los medios de cultivo adecuados para este propósito incluyen, por ejemplo, medio D-MEM o RPMI-1640. Además, las células de hibridoma se pueden cultivar *in vivo* como tumores ascíticos en un animal.

Los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones se separan adecuadamente del medio de cultivo, líquido ascítico o suero por procedimientos de purificación de inmunoglobulinas convencionales, tales como, por ejemplo, proteína A-sefarosa, cromatografía con hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad.

El ADN que codifica los anticuerpos monoclonales se aísla y secuenciar fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas oligonucleotídicas que se pueden unir específicamente a genes que

codifican las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos murinos). En algunos modos de realización, las células de hibridoma sirven como una fuente de dicho ADN. Una vez aislado, se puede disponer el ADN en vectores de expresión, que, a continuación, se transfectan en células huésped, tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de ovario de hámster chino (CHO) o células de mieloma, que de otro modo no producen proteína inmunoglobulina, para obtener la síntesis de anticuerpos monoclonales en las células huésped recombinantes. Los artículos de revisión sobre expresión recombinante en bacterias de ADN que codifica el anticuerpo incluyen Skerra *et al.*, *Curr. Opinion in Immunol.* 5:256-262 (1993) y Plüskthun, *Immunol. Revs.*, 130:151-188 (1992).

También se pueden aislar anticuerpos o fragmentos de anticuerpo a partir de colecciones de fagos de anticuerpos generadas usando las técnicas descritas en McCafferty *et al.*, *Nature*, 348:552-554 (1990). Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991) y Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) describen el aislamiento de anticuerpos murinos y humanos, respectivamente, usando colecciones de fagos. Las publicaciones posteriores describen la producción de anticuerpos humanos de alta afinidad (intervalo nM) por intercambio entre cadenas (Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992)), así como la infección combinatoria y recombinación *in vivo* como una estrategia para construir colecciones de fagos muy grandes (Waterhouse *et al.*, *Nuc. Acids. Res.*, 21:2265-2266 (1993)). Por tanto, estas técnicas son alternativas viables a las técnicas de hibridoma de anticuerpo monoclonal tradicionales para el aislamiento de anticuerpos monoclonales.

También se puede modificar el ADN, por ejemplo, sustituyendo la secuencia codificante para los dominios constantes de la cadena pesada y ligera humana en lugar de las secuencias murinas homólogas (patente de EE. UU. n.º 4.816.567; Morrison *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 81:6851 (1984)), o uniendo covalentemente a la secuencia codificante de inmunoglobulina toda o parte de la secuencia codificante para un polipéptido no inmunoglobulínico.

Típicamente, dichos polipéptidos no inmunoglobulínicos sustituyen los dominios constantes de un anticuerpo, o sustituyen los dominios variables de un sitio de combinación con antígeno de un anticuerpo para crear un anticuerpo bivalente quimérico que comprende un sitio de combinación con antígeno que tiene especificidad por un antígeno y otro sitio de combinación con antígeno que tiene especificidad por un antígeno diferente.

(iii) Anticuerpos humanizados

Los procedimientos para humanizar anticuerpos no humanos se han descrito en la técnica. En algunos modos de realización, un anticuerpo humanizado tiene uno o más residuos aminoacídicos introducidos en él de una fuente que no es humana. Estos residuos aminoacídicos no humanos se denominan a menudo residuos "importados", que típicamente se toman de un dominio variable "importado". La humanización se puede realizar esencialmente siguiendo el procedimiento de Winter y colaboradores (Jones *et al.*, *Nature* 321:522-525 (1986), Riechmann *et al.*, *Nature* 332:323-327 (1988), Verhoeven *et al.*, *Science* 239:1534-1536 (1988)), sustituyendo las correspondientes secuencias de un anticuerpo humano por las secuencias de la región hipervariable. En consecuencia, dichos anticuerpos "humanizados" son anticuerpos quiméricos (patente de EE. UU. n.º 4.816.567) en los que se ha sustituido sustancialmente menos de un dominio variable humano intacto por la correspondiente secuencia de una especie no humana.

En la práctica, los anticuerpos humanizados son típicamente anticuerpos humanos en los que algunos residuos de la región hipervariable y posiblemente algunos residuos de FR se sustituyen por residuos de sitios análogos en anticuerpos de roedor.

La elección de dominios variables humanos, tanto ligeros como pesados, que se van a usar en la preparación de los anticuerpos humanizados es muy importante para reducir la antigenicidad. De acuerdo con el llamado procedimiento de "mejor ajuste", la secuencia del dominio variable de un anticuerpo de roedor se criba frente a toda la colección de secuencias conocidas de dominio variable humano. La secuencia humana que es más cercana a la del roedor se acepta a continuación como la región estructural (FR) humana para el anticuerpo humanizado (Sims *et al.*, *J. Immunol.*, 151:2296 (1993); Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 196:901 (1987)). Otro procedimiento usa una región estructural particular derivada de la secuencia consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de la cadena ligera o pesada. Se puede usar la misma región estructural para varios anticuerpos humanizados diferentes (Carter *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285 (1992); Presta *et al.*, *J. Immunol.*, 151:2623 (1993)).

Es importante además que los anticuerpos se humanicen con retención de alta afinidad por el antígeno y otras propiedades biológicas favorables. Para lograr este objetivo, se pueden preparar anticuerpos humanizados por un procedimiento de análisis de las secuencias originales y diversos productos humanizados conceptuales usando modelos tridimensionales de las secuencias originales y humanizadas. Los modelos de inmunoglobulina tridimensionales están disponibles comúnmente y son conocidos para los expertos en la técnica. Están disponibles programas informáticos que ilustran y presentan estructuras conformacionales tridimensionales probables de secuencias de inmunoglobulina candidatas seleccionadas. La inspección de estas presentaciones permite el análisis del probable papel de los residuos en el funcionamiento de la secuencia de inmunoglobulina candidata, es decir, el análisis de residuos que influyen en la capacidad de la inmunoglobulina candidata de unirse a su antígeno.

De esta manera, se pueden seleccionar y combinar residuos de FR a partir de las secuencias receptoras e importadas de modo que se logra la característica de anticuerpo deseada, tal como un incremento en la afinidad por el/los antígeno(s) diana. En general, los residuos de la región hipervariable están directamente y lo más sustancialmente implicados en la influencia en la unión a antígeno.

Como se explica anteriormente, el anticuerpo anti-CD20 que se va a usar de acuerdo con la invención es ocrelizumab. También se divulgan otros anticuerpos anti-CD20 en el presente documento. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CD20 puede ser un anticuerpo 2H7 humanizado. El anticuerpo 2H7 humanizado puede comprender una, dos, tres, cuatro, cinco o seis secuencias de CDR como se muestra en la FIG. 1A y 1B. En algunos modos de realización, el anticuerpo 2H7 humanizado comprende una, dos, tres, cuatro, cinco o seis de las siguientes secuencias de CDR:

secuencia de CDR L1 **RASSSVSYXH** en la que X es M o L (SEQ ID NO: 18), por ejemplo **RASSSVSYMH** (SEQ ID NO: 4) (fig. 1A),

secuencia de CDR L2 **APSNLAS** (SEQ ID NO: 5) (fig. 1A),

secuencia de CDR L3 **QQWSENPPT** en la que X es S o A (SEQ ID NO: 19), por ejemplo **QQWSENPPT** (SEQ ID NO: 6) (fig. 1A),

secuencia de CDR H1 **GYTFISYMH** (SEQ ID NO: 10) (fig. 1B),

secuencia de CDR H2 de **AIYPCNGXTSYNQKFKG** en la que X es D o A (SEQ ID NO: 20), por ejemplo **AIYPCNGDTSYNQKFKG** (SEQ ID NO: 11) (fig. 1B), y

secuencia de CDR H3 de **VVYYSSXXYWYFDV** en la que la X en la posición 6 es N, A, Y, W o D, y la X en la posición 7 es S o R (SEQ ID NO: 21), por ejemplo **VVYYSNSYWYFDV** (SEQ ID NO: 12) (fig. 1B).

Las secuencias de CDR anteriores se presentan en general dentro de secuencias estructurales pesada variable y ligera variable humanas, tales como sustancialmente los residuos FR consenso humanos del subgrupo kappa de la cadena ligera humana I (VL6I), y sustancialmente los residuos FR consenso humanos del subgrupo de la cadena pesada humana III (VH11). Véase también el documento WO 2004/056312 (Lowman *et al.*).

En algunos modos de realización, la región pesada variable se puede unir a una región constante de la cadena de IgG humana, en la que la región puede ser, por ejemplo, IgG1 o IgG3, incluyendo la secuencia natural y regiones constantes variantes.

En algunos modos de realización, dicho anticuerpo comprende la secuencia de dominio pesado variable de SEQ ID NO:8 (v16, como se muestra en la fig. 1B), que opcionalmente también comprende la secuencia de dominio ligero variable de SEQ ID NO:2 (v16, como se muestra en la fig. 1A), que opcionalmente comprende una o más sustituciones aminoácidas en las posiciones 56, 100 y/o 100A, por ejemplo, D56A, N100A o N100Y, y/o S100aR en el dominio pesado variable y una o más sustituciones aminoácidas en las posiciones 32 y/o 92, por ejemplo, M32L y/o S92A, en el dominio ligero variable. En algunos modos de realización, el anticuerpo es un anticuerpo intacto que comprende las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera de SEQ ID NO: 13 o 16, y las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO: 14, 15, 17, 22 o 25. De acuerdo con la invención, el anticuerpo 2H7 humanizado es ocrelizumab (Genentech).

Como se divulga en el presente documento, un 2H7 humanizado puede ser un anticuerpo intacto o fragmento de anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena ligera variable:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQWSENPPTFGQGGTKVEIKR
 (SEQ ID NO:2);

y la secuencia de la cadena pesada variable:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIY
PGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSN
SYWYFDVWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:8).

En algunos modos de realización, el anticuerpo 2H7 humanizado es un anticuerpo intacto, en algunos modos de realización, comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASSSVSYMHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLQPEDFATYYCQQWSFNPPFTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5 (SEQ ID NO: 13);

y la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIY
PGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSN
SYWYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
10 GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 14)

o la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIY
PGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSN
SYWYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
15 CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 26)

o la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMIHWVRQAPGKGLEWVGAIY
 PGNGDTISYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSN
 SYWYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
 SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
 VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:15)

o la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada:

5 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMIHWVRQAPGKGLEWVGAIY
 PGNGDTISYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSN
 SYWYFDVWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPE
 PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
 SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
 VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQD
 WLNGKEYKCKVSNKALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
 QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:27).

En algunos modos de realización, se retira el aminoácido K en el extremo C de la cadena pesada.

10 En algunos modos de realización, el anticuerpo 2H7 humanizado comprende la secuencia de dominio ligero variable 2H7.v511:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLAS
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQGTKVEIKR
 15 (SEQ ID NO:23)

y la secuencia de dominio pesado variable de 2H7.v511:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMIHWVRQAPGKGLEWVGAIY
 PGNGATSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSY
 20 RYWYFDVWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:24).

En algunos modos de realización, el anticuerpo 2H7.v511 humanizado es un anticuerpo intacto, puede comprender la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSSVSYLHWYQQKPGKAPKPLIYAPSNLA
SGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQQWAFNPPTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV
TEQDSKDSITYSLSSITLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
(SEQ ID NO:16)

y la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de SEQ ID NO:17 o:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIIY
PGNGATSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVVYYSY
RYWYFDVWGGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNALPAPIAATISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:25).

En algunos modos de realización, el anticuerpo en el presente documento puede comprender además al menos una sustitución aminoacídica en la región Fc que mejora la actividad ADCC, tal como una en la que las sustituciones aminoacídicas están en las posiciones 298, 333 y 334, preferentemente S298A, E333A y K334A, usando la numeración EU de residuos de la cadena pesada. Véase también la patente de EE. UU. n.º 6.737.056B1, Presta. Cualquiera de estos anticuerpos puede comprender al menos una sustitución en la región Fc que mejora la unión a FcRn o la semivida en suero, por ejemplo, una sustitución en la posición 434 de la cadena pesada, tal como N434W. Véase también la patente de EE. UU. n.º 6.737.056B1, Presta. Cualquiera de estos anticuerpos puede comprender además al menos una sustitución aminoacídica en la región Fc que incrementa la actividad CDC, por ejemplo, que comprende al menos una sustitución en la posición 326, preferentemente K326A o K326W. Véase también la patente de EE. UU. n.º 6.528.624B1 (Idusogie *et al.*).

En algunos modos de realización, las variantes de 2H7 humanizadas son aquellas que comprenden el dominio ligero variable de SEQ ID NO:2 y el dominio pesado variable de SEQ ID NO:8, incluyendo aquellas con o sin sustituciones en una región Fc (si está presente), y aquellas que comprenden un dominio pesado variable con alteración N100A; o D56A y N100A; o D56A, N100Y y S100aR; en SEQ ID NO:8 y un dominio ligero variable con alteración M32L; o S92A; o M32L y S92A; en SEQ ID NO:2. M34 en el dominio pesado variable de 2H7.v16 se ha identificado como una fuente potencial de estabilidad de anticuerpo y es otro candidato potencial para la sustitución.

En algunos anticuerpos divulgados en el presente documento, la región variable de variantes basadas en 2H7.v16 comprende las secuencias de aminoácidos de v16, excepto en las posiciones de las sustituciones aminoacídicas que se indican en la **tabla 1** a continuación. A menos que se indique de otro modo, las variantes de 2H7 tendrán la misma cadena ligera que la de v16.

Tabla 1: variantes de anticuerpo 2H7 humanizado ejemplares

Versión 2H7	Cambios en la cadena pesada (V _H)	Cambios en la cadena ligera (V _L)	Cambios en Fc
16 para referencia			-
31	-	-	S298A, E333A, K334A
73	N100A	M32L	
75	N100A	M32L	S298A, E333A, K334A
96	D56A, N100A	S92A	
114	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A

115	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, E356D, M358L
116	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, K334A, K322A
138	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, K326A
477	D56A, N100A	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, K326A, N434W
375	-	-	K334L
588	-	-	S298A, E333A, K334A, K326A
511	D56A, N100Y, S100aR	M32L, S92A	S298A, E333A, K334A, K326A

(iv) Anticuerpos humanos

De forma alternativa a la humanización, se pueden generar anticuerpos humanos. Por ejemplo, ahora es posible producir animales transgénicos (por ejemplo, ratones) que, tras su inmunización, pueden producir un repertorio total de anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena. Por ejemplo, se ha descrito que la delección homocigótica del gen de la región de unión de la cadena pesada de anticuerpo (J_H) en ratones mutantes quiméricos y de estirpe germinal da como resultado la inhibición completa de la producción de anticuerpos endógenos. La transferencia de la matriz génica de inmunoglobulina de estirpe germinal humana en dichos ratones mutantes de estirpe germinal dará como resultado la producción de anticuerpos humanos tras la exposición a antígeno. Véanse, por ejemplo, Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:2551 (1993); Jakobovits *et al.*, *Nature*, 362:255-258 (1993); Bruggermann *et al.*, *Year in Immuno.*, 7:33 (1993); y las patentes de EE. UU. n.ºs 5.591.669; 5.589.369 y 5.545.807.

De forma alternativa, se puede usar la tecnología de presentación en fagos (McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-553 (1990)) para producir anticuerpos y fragmentos de anticuerpo humanos *in vitro* a partir de repertorios de genes de dominio variable (V) de inmunoglobulina de donantes no inmunizados. De acuerdo con esta técnica, los genes de dominio V de anticuerpo se clonan sin cambio de pauta de lectura en un gen de proteína de la cápside mayor o bien menor de un bacteriófago filamentosos, tal como M13 o fd, y se presentan como fragmentos de anticuerpo funcional en la superficie de la partícula de fago. Debido a que la partícula filamentosos contiene una copia de ADN monocatenario del genoma de fago, las selecciones basadas en las propiedades funcionales del anticuerpo también dan como resultado la selección del gen que codifica el anticuerpo que presenta esas propiedades. Por tanto, el fago imita algunas de las propiedades del linfocito B. La presentación en fagos se puede realizar en una variedad de formatos; para su revisión véase, por ejemplo, Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571 (1993). Se pueden usar varias fuentes de segmentos de genes V para la presentación en fagos. Clackson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991) aislaron una matriz diversa de anticuerpos anti-oxazolona a partir de una pequeña colección combinatoria aleatoria de genes V derivados de los bazo de ratones inmunizados. Se puede construir un repertorio de genes V de donantes humanos no inmunizados y se pueden aislar anticuerpos con respecto a una matriz diversa de antígenos (incluyendo autoantígenos) siguiendo esencialmente las técnicas descritas por Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991), or Griffith *et al.*, *EMBOJ.* 12:725-734 (1993). Véanse también las patentes de EE. UU. n.ºs 5.565.332 y 5.573.905.

Los anticuerpos humanos también se pueden generar por linfocitos B activados *in vitro* (véanse las patentes de EE. UU. 5.567.610 y 5.229.275).

(v) Fragmentos de anticuerpo

Se han desarrollado diversas técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo. Tradicionalmente, estos fragmentos se derivaban por medio de digestión proteolítica de anticuerpos intactos (véanse, por ejemplo, Morimoto *et al.*, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 24: 107-117 (1992) y Brennan *et al.*, *Science*, 229:81 (1985)). Sin embargo, estos fragmentos se pueden producir ahora directamente por células huésped recombinantes. Por ejemplo, se pueden aislar los fragmentos de anticuerpo de las colecciones de fagos de anticuerpos analizadas anteriormente. De forma alternativa, se pueden recuperar directamente los fragmentos Fab'-SH de *E. coli* y acoplar químicamente para formar fragmentos F(ab')₂ (Carter *et al.*, *Bio/Technology* 10:163-167 (1992)). De acuerdo con otro enfoque, se pueden aislar fragmentos F(ab')₂ directamente del cultivo de células huésped recombinantes. Otras técnicas para la producción de fragmentos de anticuerpo serán evidentes para el profesional experto. En otros modos de realización, el anticuerpo de elección es un fragmento Fv monocatenario (scFv). Véanse el documento WO 93/16185; la patente de EE. UU. n.º 5.571.894 y la patente de EE. UU. n.º 5.587.458. El fragmento de anticuerpo puede ser también un "anticuerpo lineal", por ejemplo, como se describe en la patente de EE. UU. 5.641.870. Dichos fragmentos de anticuerpo lineal pueden ser mono-específicos o biespecíficos.

(vi) Anticuerpos biespecíficos

Los anticuerpos biespecíficos son anticuerpos que tienen especificidades de unión por al menos dos epítomos diferentes. Los anticuerpos biespecíficos ejemplares se pueden unir a dos epítomos diferentes del marcador de

superficie de linfocito B. Otros de dichos anticuerpos se pueden unir al marcador de superficie de linfocito B y unir además a un segundo marcador de superficie de linfocito B diferente. De forma alternativa, un brazo de unión de marcador de superficie de linfocito B se puede combinar con un brazo que se une a una molécula desencadenante en un leucocito, tal como una molécula receptora de linfocitos T (por ejemplo, CD2 o CD3) o receptores de Fc para IgG (FcγR), tales como FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16) para centrar los mecanismos de defensa celular en la célula. Los anticuerpos biespecíficos también se pueden usar para localizar agentes citotóxicos para el linfocito B. Estos anticuerpos poseen un brazo de unión de marcador de superficie de linfocito B y un brazo que se une al agente citotóxico (por ejemplo, saporina, anti-interferón-α, alcaloide de la vinca, cadena A de ricina, metotrexato o hapteno con isótopo radiactivo). Se pueden preparar anticuerpos biespecíficos como anticuerpos de longitud completa o fragmentos de anticuerpo (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos F(ab')₂).

Los procedimientos para preparar anticuerpos biespecíficos son conocidos en la técnica. La producción tradicional de anticuerpos biespecíficos de longitud completa se basa en la coexpresión de dos pares de cadena pesada-cadena ligera de inmunoglobulina, donde las dos cadenas tienen especificidades diferentes (Millstein *et al.*, *Nature* 305:537-539 (1983)). Debido a la variedad aleatoria de cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina, estos hibridomas (cuadromas) producen una mezcla potencial de 10 moléculas de anticuerpo diferentes, de las que solo una tiene la estructura biespecífica correcta. La purificación de la molécula correcta, que normalmente se realiza por etapas de cromatografía de afinidad, es bastante engorrosa y los rendimientos de producto son bajos. Procedimientos similares se divulgan en el documento WO 93/08829, y en Traunecker *et al.*, *EMBOJ.*, 10:3655-3659 (1991).

De acuerdo con un enfoque diferente, los dominios variables de anticuerpo con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación anticuerpo-antígeno) se fusionan a secuencias de dominio constante de inmunoglobulina. En algunos modos de realización, la fusión es con un dominio constante de la cadena pesada de inmunoglobulina, que comprende al menos parte de las regiones bisagra, CH2 y CH3. En algunos modos de realización, la primera región constante de la cadena pesada (CH1), que contiene el sitio necesario para la unión a la cadena ligera, está presente en al menos una de las fusiones. Los ADN que codifican las fusiones de la cadena pesada de inmunoglobulina y, si se desea, la cadena ligera de inmunoglobulina, se insertan en vectores de expresión separados y se cotransfectan en un organismo huésped adecuado. Esto proporciona una gran flexibilidad en el ajuste de las proporciones mutuas de los tres fragmentos polipeptídicos en los modos de realización cuando las proporciones desiguales de las tres cadenas polipeptídicas usadas en la construcción proporcionan los rendimientos óptimos. Sin embargo, es posible insertar las secuencias codificantes para dos o las tres cadenas polipeptídicas en un vector de expresión cuando la expresión de al menos dos cadenas polipeptídicas en proporciones iguales da como resultado altos rendimientos o cuando las proporciones no son de especial importancia.

En algunos modos de realización de este enfoque, los anticuerpos biespecíficos se componen de una cadena pesada de inmunoglobulina híbrida con una primera especificidad de unión en un brazo, y un par de cadena pesada-cadena ligera de inmunoglobulina híbrida (proporcionando una segunda especificidad de unión) en el otro brazo. Se descubrió que esta estructura asimétrica facilita la separación del compuesto biespecífico deseado de combinaciones de cadenas de inmunoglobulina no deseadas, ya que la presencia de una cadena ligera de inmunoglobulina en solo una mitad de la molécula biespecífica proporciona una forma de separación fácil. Este enfoque se divulga en el documento WO 94/04690. Para más detalles de la generación de anticuerpos biespecíficos véase, por ejemplo, Suresh *et al.*, *Methods in Enzymology*, 121:210 (1986).

De acuerdo con otro enfoque descrito en la patente de EE. UU. n.º 5.731.168, se puede genomanipular la interfase entre un par de moléculas de anticuerpo para maximizar el porcentaje de heterodímeros que se recuperan del cultivo de células recombinantes. En algunos modos de realización, la interfase comprende al menos una parte del dominio C_H3 de un dominio constante de anticuerpo. En este procedimiento, una o más cadenas laterales de aminoácidos pequeñas de la interfase de la primera molécula de anticuerpo se reemplazan por cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean "cavidades" compensatorias de tamaño idéntico o similar a la(s) cadena(s) lateral(es) grande(s) en la interfase de la segunda molécula de anticuerpo reemplazando cadenas laterales de aminoácidos grandes por otras más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Esto proporciona un mecanismo para incrementar el rendimiento del heterodímero frente a otros productos finales no deseados, tales como homodímeros.

Los anticuerpos biespecíficos incluyen anticuerpos reticulados o "heteroconjugados". Por ejemplo, uno de los anticuerpos en el heteroconjugado se puede acoplar a avidina, el otro a biotina. Por ejemplo, se han propuesto dichos anticuerpos para dirigir células del sistema inmunitario a células no deseadas (patente de EE. UU. n.º 4.676.980) y para el tratamiento de la infección por el VIH (documentos WO 91/00360, WO 92/200373 y EP 03089). Se pueden preparar anticuerpos heteroconjugados usando cualquier procedimiento de reticulación conveniente. Los agentes de reticulación adecuados son bien conocidos en la técnica y se divulgan en la patente de EE. UU. n.º 4.676.980, junto con varias técnicas de reticulación.

Las técnicas para generar anticuerpos biespecíficos de fragmentos de anticuerpo también se han descrito en la literatura. Por ejemplo, se pueden preparar anticuerpos biespecíficos usando un enlace químico. Brennan *et al.*,

Science 229: 81 (1985) describen un procedimiento en el que los anticuerpos intactos se escinden proteolíticamente para generar fragmentos F(ab')₂. Estos fragmentos se reducen en presencia del agente de complejación con ditioi arsenito de sodio para estabilizar los ditioles vecinos y evitar la formación de disulfuro intermolecular. A continuación, los fragmentos Fab' generados se convierten en derivados de tionitrobenzoato (TNB). A continuación, uno de los derivados Fab'-TNB se reconvierte en Fab'-tiol por reducción con mercaptoetilamina y se mezcla con una cantidad equimolar del otro derivado Fab'-TNB para formar el anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos producidos se pueden usar como agentes para la inmovilización selectiva de enzimas.

También se han descrito diversas técnicas para preparar y aislar fragmentos de anticuerpo biespecífico directamente del cultivo de células recombinantes. Por ejemplo, se han producido anticuerpos biespecíficos usando cremalleras de leucina. Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 148(5): 1547-1553 (1992). Los péptidos de cremalleras de leucina de las proteínas Fos y Jun se enlazaron a las porciones Fab' de dos anticuerpos diferentes por fusión génica. Los homodímeros de anticuerpo se redujeron en la región bisagra para formar monómeros y a continuación se reoxidaron para formar los heterodímeros de anticuerpo. Este procedimiento también se puede utilizar para la producción de homodímeros de anticuerpo. La tecnología de "diacuerpo" descrita por Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993) ha proporcionado un mecanismo alternativo para preparar fragmentos de anticuerpo biespecífico. Los fragmentos comprenden un dominio variable de la cadena pesada (V_H) conectado a un dominio variable de la cadena ligera (V_L) por un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios de la misma cadena. En consecuencia, los dominios V_H y V_L de un fragmento se fuerzan a emparejarse con los dominios V_L y V_H complementarios de otro fragmento, formando de este modo dos sitios de unión a antígeno. También se ha informado de otra estrategia para preparar fragmentos de anticuerpo biespecífico por el uso de dímeros de Fv monocatenario (sFv). Véase Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 152:5368 (1994).

Se contemplan anticuerpos con más de dos valencias. Por ejemplo, se pueden preparar anticuerpos triespecíficos. Tutt *et al.* *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

V. Conjugados y otras modificaciones del anticuerpo

Como se explica anteriormente, el anticuerpo anti-CD20 que se va a usar de acuerdo con la presente invención es ocrelizumab. También se divulgan en el presente documento otros anticuerpos anti-CD20 (de referencia). El anticuerpo se puede conjugar opcionalmente a un agente citotóxico. Por ejemplo, el anticuerpo se puede conjugar con un fármaco como se describe en el documento WO2004/032828.

Los agentes quimioterápicos útiles en la generación de dichos conjugados anticuerpo-agente citotóxico se han descrito anteriormente.

Los conjugados de un anticuerpo y una o más toxinas de moléculas pequeñas, tales como una calicheamicina, una maitansina (patente de EE. UU. n.º 5.208.020), un tricoteno y CC1065 también se divulgan en el presente documento. Por ejemplo, el anticuerpo se puede conjugar a una o más moléculas de maitansina (por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 moléculas de maitansina por molécula de anticuerpo). La maitansina se puede convertir, por ejemplo, en May-SS-Me, que se puede reducir a May-SH3 y reaccionar con anticuerpo modificado (Chari *et al.* *Cancer Research* 52: 127-131 (1992)) para generar un conjugado maitansinoide-anticuerpo.

De forma alternativa, el anticuerpo se conjuga con una o más moléculas de calicheamicina. La familia de antibióticos de calicheamicina pueden producir roturas de ADN bicatenario en concentraciones subpicomolares. Los análogos estructurales de calicheamicina que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, γ_1^1 , α_2^1 , α_3^1 , N-acetil- γ_1^1 , PSAG y θ_1^1 (Hinman *et al.* *Cancer Research* 53: 3336-3342 (1993) y Lode *et al.* *Cancer Research* 58: 2925-2928 (1998)).

Las toxinas enzimáticamente activas y fragmentos de las mismas que se pueden usar incluyen la cadena A de difteria, fragmentos activos de no unión de la toxina de difteria, cadena A de exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), cadena A de ricina, cadena A de abrina, cadena A de modeccina, alfa-sarcina, proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas de diantina, proteínas de *Phytolacca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *saponaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y los tricotecenos. Véase, por ejemplo, el documento WO 93/21232 publicado el 28 de octubre de 1993.

También se divulga en el presente documento un anticuerpo conjugado con un compuesto con actividad nucleolítica (por ejemplo, una ribonucleasa o una ADN endonucleasa tal como una desoxirribonucleasa; DNasa).

Una variedad de isótopos radioactivos están disponibles para la producción de anticuerpos radioconjugados. Los ejemplos incluyen At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² e isótopos radioactivos de Lu.

Los conjugados del anticuerpo y agente citotóxico se pueden preparar usando una variedad de agentes de

acoplamiento de proteínas bifuncionales tales como 3-(2-piridilditio)propionato de *N*-succinimidilo (SPDP), 4-(*N*-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo, iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como adipimidato de dimetilo HCl), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos bis-acido (tales como bis-(*p*-acidobenzoi)hexanodiamina),
 5 derivados de bis-diazonio (tales como bis-(*p*-diazoniobenzoi)etilendiamina), diisocianatos (tales como tolueno-2,6-diisocianato) y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno). Por ejemplo, se puede preparar una inmunotoxina de ricina como se describe en Vitetta *et al.*, *Science* 238:1098 (1987). El ácido 1-isotiocianatobencil-3-metildietilentriaminopentaacético (MX-DTPA) marcado con carbono-14 es un agente quelante
 10 ejemplar para la conjugación del radionúclido al anticuerpo. Véase el documento WO94/11026. El conector puede ser un "conector escindible" que facilita la liberación del fármaco citotóxico en la célula. Por ejemplo, se puede usar un conector lábil en ácido, conector sensible a peptidasa, conector de dimetilo o conector que contiene disulfuro (Chari *et al.*, *Cancer Research* 52:127-131 (1992)).

De forma alternativa, se puede preparar una proteína de fusión que comprende el anticuerpo y agente citotóxico,
 15 por ejemplo, por técnicas recombinantes o síntesis peptídica.

Aún en otro modo de realización, el anticuerpo se puede conjugar a un "receptor" (tal como estreptavidina) para su utilización en la preselección tumoral en el que el conjugado anticuerpo-receptor se administra al paciente, seguido de la retirada del conjugado no unido de la circulación usando un agente de aclaramiento y, a continuación
 20 la administración de un "ligando" (por ejemplo, avidina) que se conjuga con un agente citotóxico (por ejemplo, un radionúclido).

Los anticuerpos también se pueden conjugar con una enzima activadora de profármaco que convierte un profármaco (por ejemplo, un agente quimioterápico de peptidilo, véase el documento WO 81/01145) en un fármaco antineoplásico activo. Véase, por ejemplo, el documento WO 88/07378 y la patente de EE. UU. n.º 4.975.278.

El componente enzimático de dichos conjugados incluye cualquier enzima que pueda actuar sobre un profármaco de tal manera que lo convierta en su forma citotóxica más activa.

Las enzimas que son útiles incluyen, pero no se limitan a, fosfatasa alcalina, útil para convertir profármacos que contienen fosfato en fármacos libres; arilsulfatasa, útil para convertir profármacos que contienen sulfato en fármacos libres; citosina desaminasa, útil para convertir 5-fluorocitosina no tóxica en el antineoplásico 5-fluorouracilo; proteasas, tales como proteasa de *Serratia*, termolisina, subtilisina, carboxipeptidasas y catepsinas (tales como catepsinas B y L), que son útiles para convertir profármacos que contienen péptidos en fármacos libres;
 35 D-alanilcarboxipeptidasas, útiles para convertir profármacos que contienen sustituyentes de D-aminoácidos; enzimas que escinden glúcidos, tales como β -galactosidasa y neuraminidasa, útiles para convertir profármacos glucosilados en fármacos libres; β -lactamasa, útil para convertir fármacos derivatizados con β -lactamas en fármacos libres; y penicilina amidasa, tales como penicilina V amidasa o penicilina G amidasa, útiles para convertir fármacos derivatizados en sus nitrógenos amínicos con grupos fenoxiacetilo o fenilacetilo, respectivamente, en fármacos libres. De forma alternativa, se pueden usar anticuerpos con actividad enzimática, también conocidos en la técnica como "accimas", para convertir los profármacos en fármacos activos libres (véase, por ejemplo, Massey, *Nature* 328: 457-458 (1987)). Los conjugados anticuerpo-accima se pueden preparar como se describe en el presente documento para el suministro de la accima a una población de células tumorales.

Las enzimas se pueden unir covalentemente al anticuerpo por técnicas bien conocidas en la técnica tales como el uso de los reactivos de reticulación heterobifuncionales analizados anteriormente. De forma alternativa, las proteínas de fusión que comprenden al menos la región de unión a antígeno de un anticuerpo enlazado a al menos una porción funcionalmente activa de una enzima se pueden construir usando técnicas de ADN recombinante bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Neuberger *et al.*, *Nature*, 312: 604-608 (1984)).

Otras modificaciones del anticuerpo se contemplan en el presente documento. Por ejemplo, el anticuerpo se puede enlazar a uno de una variedad de polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, polioxialquilenos o copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol. En algunos modos de realización, los fragmentos de anticuerpo, tales como Fab', se enlazan a una o más moléculas de PEG.

Los anticuerpos divulgados en el presente documento también se pueden formular como liposomas. Los liposomas que contienen el anticuerpo se preparan por procedimientos conocidos en la técnica, tal como se describe en Epstein *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:3688 (1985); Hwang *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:4030 (1980); las patentes de EE. UU. n.ºs 4.485.045 y 4.544.545; y el documento WO97/38731 publicado el 23 de octubre de 1997. Se divulgan liposomas con tiempo en circulación potenciado en la patente de EE. UU. n.º 5.013.556.

Se pueden generar liposomas en particular útiles por el procedimiento de evaporación en fase inversa con una composición lipídica que comprende fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivatizada con PEG (PEG-PE). Se extruyen liposomas a través de filtros de tamaño de poro definido para producir liposomas con el diámetro deseado. Se pueden conjugar fragmentos Fab' de un anticuerpo a los liposomas como se describe en Martin *et al.* *J. Biol. Chem.* 257: 286-288 (1982) por medio de una reacción de intercambio de disulfuro. Un agente

quimioterápico opcionalmente está contenido dentro del liposoma. Véase Gabizon *et al. J. National Cancer Inst.* 81(19)1484 (1989).

Se contemplan una modificación/modificaciones de secuencia de aminoácidos del anticuerpo. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del anticuerpo. Las variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo se preparan introduciendo cambios nucleotídicos apropiados en el ácido nucleico del anticuerpo o por síntesis peptídica. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, deleciones de y/o inserciones en y/o sustituciones de residuos dentro de las secuencias de aminoácidos del anticuerpo. Se prepara cualquier combinación de deleción, inserción y sustitución para llegar a la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos postraduccionales del anticuerpo, tales como cambiar el número o posición de sitios de glucosilación.

Un procedimiento útil para la identificación de determinados residuos o regiones del anticuerpo que son localizaciones preferentes para la mutagénesis se llama "mutagénesis por barrido de alanina" como se describe por Cunningham and Wells *Science*, 244:1081-1085 (1989). Aquí, un residuo o grupo de residuos diana (por ejemplo, residuos cargados, tales como Arg, Asp, His, Lys y Glu) se identifica y reemplaza por un aminoácido neutro o cargado negativamente (lo más preferentemente alanina o polialanina) para que afecten a la interacción de los aminoácidos con el antígeno. Esas localizaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones se refinan a continuación introduciendo otras variantes en, o para, los sitios de sustitución. Por tanto, aunque el sitio para introducir una variación de secuencia de aminoácidos está predeterminado, la naturaleza de la mutación *per se* no está necesariamente predeterminada. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado, se realiza una mutagénesis aleatoria o por barrido de Ala en el codón o región diana y se criban las variantes de anticuerpo expresadas para determinar la actividad deseada.

Las inserciones en la secuencia de aminoácidos incluyen fusiones amino- y/o carboxiterminales que varían en longitud de un residuo a polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como inserciones intrasecuenciales de residuos aminoácidos individuales o múltiples. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo con un residuo de metionilo N terminal o el anticuerpo fusionado a un polipéptido citotóxico. Otras variantes de inserción de la molécula de anticuerpo incluyen la fusión al extremo N o C del anticuerpo de una enzima o un polipéptido que incrementa la semivida en suero del anticuerpo.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución amioácídica. Estas variantes tienen al menos un residuo aminoácídico en la molécula de anticuerpo reemplazado por un residuo diferente. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis por sustitución de anticuerpo de los anticuerpos incluyen las regiones hipervariables, pero también se contemplan alteraciones en FR. Se muestran sustituciones conservadoras en la **tabla 2** bajo el encabezado "sustituciones preferentes". Si dichas sustituciones dan como resultado un cambio en la actividad biológica, entonces se pueden introducir más cambios sustanciales, denominados "sustituciones ejemplares" en la **tabla 2**, y cribar los productos.

Tabla 2

Residuo original	Sustituciones ejemplares	Sustituciones preferentes
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr

Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; norleucina	Leu

Se consiguen modificaciones sustanciales en las propiedades biológicas del anticuerpo seleccionando sustituciones que difieran significativamente en su efecto sobre el mantenimiento de (a) la estructura de la cadena principal del polipéptido en el área de sustitución, por ejemplo, como una conformación de lámina o hélice, (b) la carga o hidrofobia de la molécula en el sitio diana o (c) el volumen de la cadena lateral. Los aminoácidos se pueden agrupar de acuerdo con las similitudes en las propiedades de sus cadenas laterales (en A. L. Lehninger, en *Biochemistry*, segunda ed., pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)):

- (1) no polares: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M)
- (2) polares no cargados: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)
- (3) ácidos: Asp (D), Glu (E)
- (4) básicos: Lys (K), Arg (R), His (H)

De forma alternativa, los residuos naturales se pueden dividir en grupos basados en propiedades de cadena lateral comunes:

- (1) hidrófobos: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- (2) hidrófilos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- (3) ácidos: Asp, Glu;
- (4) básicos: His, Lys, Arg;
- (5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro;
- (6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

Las sustituciones no conservadoras conllevarán intercambiar un miembro de una de estas clases por otra clase.

Cualquier residuo de cisteína no implicado en mantener la conformación apropiada del anticuerpo también se puede sustituir, en general, por serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y evitar la reticulación anómala. Por el contrario, se puede(n) añadir enlace(s) de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad (en particular, si el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv).

Un tipo en particular preferente de variante de sustitución implica sustituir uno o más residuos de la región hipervariable de un anticuerpo original. En general, la(s) variante(s) resultante(s) seleccionada(s) para su desarrollo adicional tendrá(n) una mejora en las propiedades biológicas en relación con el anticuerpo original a partir del que se generan. Una manera conveniente de generar dichas variantes de sustitución es la maduración en afinidad usando presentación en fagos. En resumen, se mutan varios sitios de la región hipervariable (por ejemplo, 6-7 sitios) para generar todas las posibles sustituciones de amino en cada sitio. Por tanto, las variantes de anticuerpo generadas se presentan de una forma monovalente a partir de partículas de fagos filamentosos como fusiones con el producto del gen III de M13 rellenas dentro de cada partícula. Las variantes filamentosas en fagos se criban a continuación para determinar su actividad biológica (por ejemplo, afinidad de unión) como se divulga en el presente documento. Para identificar los sitios de región hipervariable candidatos para la modificación, se puede realizar mutagénesis por barrido de alanina para identificar residuos de región hipervariable que contribuyen significativamente a la unión a antígeno. De forma alternativa, o adicionalmente, puede ser beneficioso analizar una estructura cristalina del complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno. Dichos residuos de contacto y residuos cercanos son candidatos para la sustitución de acuerdo con las técnicas elaboradas en el presente documento. Una vez que se generan dichas variantes, el panel de variantes se somete a cribado como se describe en el presente documento y se pueden seleccionar los anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos pertinentes para su desarrollo adicional.

Otro tipo de variante de aminoácidos del anticuerpo altera el patrón de glucosilación original del anticuerpo. Dicha alteración incluye la delección de uno o más restos glucídicos encontrados en el anticuerpo y/o adición de uno o más sitios de glucosilación que no están presentes en el anticuerpo.

La glucosilación de polipéptidos es típicamente enlazada a N o bien enlazada a O. Enlazado a N se refiere a la unión del resto glucídico a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias tripeptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de

reconocimiento para la unión enzimática del resto glucídico a la cadena lateral de asparagina. Por tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias tripeptídicas en un polipéptido crea un sitio de glucosilación potencial. La glucosilación enlazada a O se refiere a la unión de uno de los glúcidos N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un hidroxiaminoácido, lo más comúnmente serina o treonina, aunque también se puede usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

La adición de sitios de glucosilación al anticuerpo se logra convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de modo que contiene una o más de las secuencias tripeptídicas descritas anteriormente (para sitios de glucosilación enlazados a N). La alteración también se puede preparar por la adición de, o sustitución por, uno o más residuos de serina o treonina a la secuencia del anticuerpo original (para sitios de glucosilación enlazados a O).

Cuando el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato unido a la misma. Por ejemplo, los anticuerpos con una estructura de carbohidratos maduros que carece de fucosa unida a una región Fc del anticuerpo se describen en la solicitud de patente de EE. UU. n.º US 2003/0157108 A1 (Presta, L.); véase también el documento US 2004/0093621 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd) sobre una composición de anticuerpo para CD20. Se referencian anticuerpos con una N-acetilglucosamina (GlcNAc) de bisección en el carbohidrato unido a una región Fc del anticuerpo en el documento WO03/011878, Jean-Mairet *et al.* y la patente de EE. UU. n.º 6.602.684, Umana *et al.* Se informa de anticuerpos con al menos un residuo de galactosa en el oligosacárido unido a una región Fc del anticuerpo en el documento WO97/30087 (Patel *et al.*); véanse también los documentos WO98/58964 (Raju, S.) y WO99/22764 (Raju, S.) referentes a anticuerpos con carbohidratos alterados unidos a la región Fc de los mismos.

En algunos modos de realización, la variante de glucosilación en el presente documento comprende una región Fc, en la que una estructura de carbohidrato unida a la región Fc carece de fucosa. Dichas variantes tienen una función ADCC mejorada. Opcionalmente, la región Fc comprende además una o más sustituciones aminoacídicas en la misma que mejoran adicionalmente la ADCC, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc (numeración EU de residuos). Los ejemplos de publicaciones relacionadas con anticuerpos "desfucosilados" o "carentes de fucosa" incluyen: la solicitud de patente de EE. UU. n.º US 2003/0157108 A1, Presta, L.; documentos WO 00/61739A1; WO01/29246A1; US2003/0115614A1; US2002/0164328A1; US2004/0093621A1; US2004/0132140A1; US2004/0110704A1; US2004/0110282A1; US2004/0109865A1; WO03/085119A1; WO03/084570A1; WO2005/035778; WO2005/035586 (que describen la inhibición de ARN (ARNi) de fucosilación); Okazaki *et al.* *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki *et al.* *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004). Los ejemplos de líneas celulares que pueden producir anticuerpos desfucosilados incluyen células Lec13 CHO carentes de fucosilación de proteínas (Ripka *et al.* *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); solicitud de patente de EE. UU. n.º US 2003/0157108 A1, Presta, L.; y documento WO 2004/056312 A1, Adams *et al.*, especialmente en el ejemplo 11), líneas celulares con genes inactivados, tales como células CHO con inactivación génica en la alfa-1,6-fucosiltransferasa, FUT8 (Yamane-Ohnuki *et al.* *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)).

Las moléculas de ácido nucleico que codifican variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo se preparan por una variedad de procedimientos conocidos en la técnica. Estos procedimientos incluyen, pero no se limitan a, el aislamiento de una fuente natural (en el caso de las variantes de secuencia de aminoácidos naturales) o la preparación por mutagénesis mediada por oligonucleótido (o dirigida a sitio), mutagénesis por PCR y mutagénesis de módulo de una variante anterior preparada o una versión no variante del anticuerpo.

Puede ser deseable modificar un anticuerpo con respecto a la función efectora, por ejemplo, para potenciar la citotoxicidad celular dependiente de antígenos (ADCC) y/o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) del anticuerpo. Esto se puede lograr introduciendo una o más sustituciones aminoacídicas en una región Fc de un anticuerpo. De forma alternativa o adicionalmente, se puede(n) introducir (un) residuo(s) de cisteína en la región Fc, permitiendo de este modo la formación de enlaces disulfuro intercatenarios en esta región. Por tanto, el anticuerpo homodimérico generado puede tener una mejora en la capacidad de internalización y/o un incremento en la destrucción celular mediada por el complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Véase Caron *et al.* *J. Exp Med.* 176:1191-1195 (1992) y Shopes, B. *J. Immunol.* 148:2918-2922 (1992). También se pueden preparar anticuerpos homodiméricos con actividad antitumoral potenciada usando agentes de reticulación heterobifuncionales como se describe en Wolff *et al.*, *Cancer Research* 53:2560-2565 (1993). De forma alternativa, se puede genomanipular un anticuerpo que tiene regiones Fc dobles y de este modo puede tener capacidades de lisis mediada por el complemento y de ADCC potenciadas. Véase Stevenson *et al.*, *Anti-Cancer Drug Design* 3:219-230 (1989).

El documento WO00/42072 (Presta, L.) describe anticuerpos con función ADCC mejorada en presencia de células efectoras humanas, donde los anticuerpos comprenden sustituciones aminoacídicas en la región Fc de los mismos. En algunos modos de realización, el anticuerpo con ADCC mejorada comprende sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc. En algunos modos de realización, la región Fc alterada es una región Fc de IgG1 humana que comprende o consiste en sustituciones en una, dos o tres de estas posiciones.

Los anticuerpos con unión a C1q y/o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) alteradas se describen en

el documento WO99/51642, patente de EE. UU. n.º 6.194.551B1, la patente de EE. UU. n.º 6.242.195B1, patente de EE. UU. n.º 6.528.624B1 y patente de EE. UU. n.º 6.538.124 (Idusogie *et al.*). Los anticuerpos comprenden una sustitución aminoacídica en una o más de las posiciones de aminoácido 270, 322, 326, 327, 329, 313, 333 y/o 334 de la región Fc de los mismos.

Para incrementar la semivida en suero del anticuerpo, se puede incorporar un epítipo de unión al receptor de rescate en el anticuerpo (especialmente un fragmento de anticuerpo) como se describe en la patente de EE. UU. 5.739.277, por ejemplo. Como se usa en el presente documento, el término "epítipo de unión a receptor de rescate" se refiere a un epítipo de la región Fc de una molécula de IgG (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄) que es responsable de incrementar la semivida en suero *in vivo* de la molécula de IgG. Los anticuerpos con sustituciones en una región Fc de los mismos y semividas en suero incrementadas también se describen en el documento WO00/42072 (Presta, L.).

También se contemplan anticuerpos genomanipulados con tres o más (preferentemente cuatro) sitios de unión a antígeno funcionales (solicitud de patente de EE. UU. n.º US2002/0004587 A1, Miller *et al.*).

VI. Formulaciones farmacéuticas

Las formulaciones terapéuticas del anticuerpo usado de acuerdo con la presente invención se preparan para su almacenamiento mezclando el anticuerpo que tiene el grado deseado de pureza con vehículos, excipientes o estabilizantes farmacéuticamente aceptables opcionales (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16.^a edición, Osol, A., Ed., (1980)), en forma de formulaciones liofilizadas o de soluciones acuosas. Los vehículos, excipientes o estabilizantes aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio; cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenos tales como metil o propilparabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; glúcidos tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEENTM, PLURONICSTM o polietilenglicol (PEG).

Las formulaciones de anticuerpos anti-CD20 ejemplares se describen en el documento WO98/56418. Esta publicación describe una formulación multidosis líquida que comprende 40 mg/ml de rituximab, acetato 25 mM, trehalosa 150 mM, alcohol bencílico al 0,9 %, polisorbato 20 al 0,02 % a pH 5,0 que tiene un tiempo de vida útil mínimo de dos años de almacenamiento a 2-8°C. Otra formulación anti-CD20 de interés comprende 10 mg/ml de rituximab en 9,0 mg/ml de cloruro de sodio, 7,35 mg/ml de citrato de sodio dihidratado, 0,7 mg/ml de polisorbato 80 y agua para inyectables estéril, pH 6,5. Como se explica anteriormente, el anticuerpo anti-CD20 que se va a usar de acuerdo con la invención es ocrelizumab.

Las formulaciones liofilizadas adaptadas para administración subcutánea se describen en la patente de EE. UU. n.º 6.267.958 (Andya *et al.*). Dichas formulaciones liofilizadas se pueden reconstituir con un diluyente adecuado a una alta concentración de proteína y la formulación reconstituida se puede administrar por vía subcutánea al mamífero que se va a tratar en el presente documento.

También se contemplan formas cristalizadas del anticuerpo o anticuerpo. Véase, por ejemplo, el documento US 2002/0136719A1 (Shenoy *et al.*).

La formulación en el presente documento también puede contener más de un compuesto activo según sea necesario para la indicación particular que se está tratando, en algunos modos de realización, aquellos con actividades complementarias que no se afectan negativamente entre sí. Por ejemplo, puede ser deseable proporcionar además un agente citotóxico; agente quimioterápico; agente inmunodepresor; citocina; anticuerpo frente a o antagonista de citocina; factor de crecimiento; hormona; integrina; anticuerpo para o antagonista de integrina (por ejemplo, un anticuerpo para LFA-1, o un anticuerpo para integrina alfa 4 tal como natalizumab/TYSABRI®) disponible de Biogen Idec/Elan Pharmaceuticals, Inc.); fármaco de clase interferón tal como IFN-beta-1a (REBIF® y AVONEX®) o IFN-beta-1b (BETASERON®); un oligopéptido tal un acetato de glatirámico (COPAXONE®); un agente citotóxico, tal como mitoxantrona (NOVANTRONE®), metotrexato, ciclofosfamida, clorambucilo o azatioprina; inmunoglobulina intravenosa (gammaglobulina); fármaco reductor de linfocitos (por ejemplo, mitoxantrona, ciclofosfamida, Campath, anti-CD4 o cladribina); fármaco inmunodepresor no reductor de linfocitos (por ejemplo, micofenolato de mofetilo (MMF) o ciclosporina); fármaco reductor de colesterol de la clase "estatina"; estradiol; testosterona; tratamiento de reposición hormonal; fármaco que trata síntomas secundarios o relacionados con la EM (por ejemplo, espasticidad, incontinencia, dolor, fatiga); un inhibidor de TNF; fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (DMARD); fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE); corticoesteroide (por ejemplo, metilprednisolona, prednisona, dexametasona o glucocorticoide); levotiroxina;

ciclosporina A; análogo de somatostatina; antagonista de citocina; antimetabolito; agente inmunodepresor; anticuerpo para o antagonista de integrina (por ejemplo, un anticuerpo para LFA-1, tal como efalizumab o un anticuerpo para integrina alfa 4 tal como natalizumab); u otro anticuerpo/antagonista de superficie de linfocito B; etc., en la formulación. El tipo y las cantidades eficaces de dichos otros agentes dependen, por ejemplo, de la cantidad de anticuerpo presente en la formulación, del tipo de esclerosis múltiple que se está tratando y de los parámetros clínicos de los pacientes. Estos se usan, en general, en las mismas dosificaciones y con vías de administración como se usa anteriormente en el presente documento o aproximadamente de un 1 a un 99 % de las dosificaciones empleadas hasta ahora.

Los ingredientes activos también se pueden atrapar en microcápsulas preparadas, por ejemplo, por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli(metacrilato de metilo), respectivamente, en sistemas de suministro de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se divulgan en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16.^a edición, Osol, A. Ed. (1980).

Se pueden preparar preparaciones de liberación mantenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación mantenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, matrices que están en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación mantenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(metacrilato de 2-hidroxietilo) o poli(alcohol vinílico)), polilactidas (pat. de EE. UU. n.º 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y γ -L-glutamato de etilo, de etileno-acetato de vinilo no degradables, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables, tales como LUPRON DEPOTTM (microesferas inyectables compuestas por copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprorrelina) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico.

Las formulaciones que se van a usar para la administración *in vivo* deben ser estériles. Esto se logra fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estériles.

En algunos modos de realización, la formulación comprende uno o más del grupo que consiste en un tampón de histidina, trehalosa, sacarosa y polisorbato 20. En algunos modos de realización, el tampón de histidina es un tampón de acetato de histidina, pH 6,0. Los ejemplos de formulaciones adecuadas para la administración del anticuerpo anti-CD20 se encuentran en Andya *et al.*, documento US2006/0088523.

Las formulaciones de anticuerpos anti-CD20 ejemplares se describen en Andya *et al.*, documentos US2006/0088523 y WO98/56418. En algunos modos de realización, la formulación es una formulación multidosis líquida que comprende el anticuerpo anti-CD20 a 40 mg/ml, acetato 25 mM, trehalosa 150 mM, alcohol bencílico al 0,9 %, polisorbato 20 al 0,02 % a pH 5,0 que tiene una tiempo de vida útil mínima de dos años de almacenamiento a 2-8 °C. En algunos modos de realización, la formulación anti-CD20 de interés comprende 10 mg/ml de anticuerpo en 9,0 mg/ml de cloruro de sodio, 7,35 mg/ml de citrato de sodio dihidratado, 0,7 mg/ml de polisorbato 80 y agua para inyectables estéril, pH 6,5. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 está en una formulación farmacéutica acuosa que comprende acetato de sodio 10-30 mM de aproximadamente pH 4,8 a aproximadamente pH 5,5, preferentemente a pH 5,5, polisorbato como tensioactivo en una cantidad de aproximadamente 0,01-0,1 % v/v, trehalosa en una cantidad de aproximadamente 2-10 % p/v y alcohol bencílico como conservante (documento U.S. 6.171.586). Las formulaciones liofilizadas adaptadas para administración subcutánea se describen en el documento WO97/04801. Dichas formulaciones liofilizadas se pueden reconstituir con un diluyente adecuado a una alta concentración de proteína y la formulación reconstituida se puede administrar por vía subcutánea al mamífero que se va a tratar en el presente documento.

En algunos modos de realización, la formulación de variantes de 2H7 humanizadas es anticuerpo a 12-14 mg/ml en histidina 10 mM, sacarosa al 6 %, polisorbato 20 al 0,02 %, pH 5,8. En un modo de realización específico, las variantes de 2H7 y en particular 2H7.v16 se formulan con 20 mg/ml de anticuerpo en sulfato de histidina 10 mM, 60 mg/ml de sacarosa, 0,2 mg/ml de polisorbato 20 y agua para inyectables estéril, a pH 5,8. En un modo de realización específico, una formulación i.v. de 2H7 v16 humanizado es: 30 mg/ml de anticuerpo en acetato de sodio 20 mM, trehalosa dihidratada al 4 %, polisorbato 20 al 0,02 % (Tween 20TM), pH 5,3. En algunos modos de realización, la formulación de variante 2H7.v511 humanizada es 15-30 mg/ml de anticuerpo, preferentemente 20 mg/ml de anticuerpo, en sulfato de histidina 10 mM, 60 mg/ml de sacarosa (6 %), 0,2 mg/ml de polisorbato 20 (0,02 %), y agua para inyectables estéril, a pH 5,8. Aún en otro modo de realización, la formulación para variantes de 2H7 y en particular 2H7.v511 es 20 mg/ml de 2H7, acetato de sodio 20 mM, trehalosa dihidratada al 4 %, polisorbato 20 al 0,02 %, pH 5,5, para administración intravenosa. En algunos modos de realización, la formulación de 2H7.v 114 es anticuerpo a 15-25 mg/ml, preferentemente 20 mg/ml, en acetato de sodio 20 mM, trehalosa dihidratada 240 mM (8 %), polisorbato 20 al 0,02 %, pH 5,3. En algunos modos de realización, el anticuerpo anti-CD20 (por ejemplo, 2H7.v16) está en una formulación que comprende 30 mg/ml de anticuerpo, acetato de sodio 20 mM, trehalosa 106 mM, polisorbato 20 al 0,02 % y pH 5,3. La formulación líquida que contiene el anticuerpo puede estar en 300 mg/vial, y se puede almacenar a 2-8 °C, protegida de la luz. En algunos modos de realización, antes de la administración, la formulación de anticuerpo se diluye con solución salina normal (cloruro de sodio al 0,9 %) en una bolsa i.v. para su administración por infusión.

VII. Artículos de fabricación y kits

La invención se refiere a un anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple, como se define además en las reivindicaciones y como se describe anteriormente en el presente documento. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la invención también se puede proporcionar en forma de un artículo de fabricación o kit. En el presente documento se describen artículos de fabricación o kits (tales como kits de piezas) que contienen materiales útiles para el tratamiento de esclerosis múltiple progresiva. En algunos modos de realización, el artículo de fabricación que comprende, envasados conjuntamente, una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-CD20 y un vehículo farmacéuticamente aceptable y una ficha técnica que indica que el anticuerpo anti-CD20 o composición farmacéutica se indica para tratar pacientes con esclerosis múltiple y proporciona una mejora en la capacidad funcional en pacientes que tienen esclerosis múltiple.

En algunos modos de realización, el artículo de fabricación o kit comprende, envasados conjuntamente, una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-CD20 y un vehículo farmacéuticamente aceptable y una ficha técnica que indica que el anticuerpo anti-CD20 o composición farmacéutica se indica para tratar pacientes con esclerosis múltiple altamente activa. En algunos modos de realización, la ficha técnica indica además que el anticuerpo anti-CD20 o composición farmacéutica se indica para tratar pacientes con esclerosis múltiple altamente activa que no se han tratado previamente con otro tratamiento para esclerosis múltiple. En algunos modos de realización, la ficha técnica indica además que el anticuerpo anti-CD20 o composición farmacéutica se indica para tratar pacientes con esclerosis múltiple altamente activa que se han tratado previamente con otro tratamiento para esclerosis múltiple. En algunos modos de realización, la ficha técnica indica además que el anticuerpo anti-CD20 o composición farmacéutica se indica para tratar pacientes con esclerosis múltiple altamente activa que son pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada para otro tratamiento para esclerosis múltiple.

En algunos modos de realización, el artículo de fabricación o kit comprende, envasados conjuntamente, una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo anti-CD20 y un vehículo farmacéuticamente aceptable y una ficha técnica que indica que el anticuerpo anti-CD20 o composición farmacéutica se indica para tratar pacientes con esclerosis múltiple y que el anticuerpo anti-CD20 o composición farmacéutica es eficaz en uno o más de los siguientes: (1) reducción en el número de lesiones en el cerebro del paciente; (2) reducción en la tasa de recidiva anualizada; (3) reducción de la progresión de discapacidad; y (4) mejora de la capacidad funcional.

En determinados modos de realización, el prospecto del envase tiene instrucciones que indican (es decir, denotan) que se administra una cantidad de ocrelizumab al paciente que es eficaz para proporcionar una exposición a ocrelizumab inicial de entre aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,6 gramos seguido de una segunda exposición a ocrelizumab de entre aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,6 gramos, no administrándose la segunda exposición hasta de aproximadamente 16 a 60 semanas desde la exposición inicial, y cada una de las exposiciones a ocrelizumab se proporciona al paciente como una o dos dosis de ocrelizumab. En algunos modos de realización, la exposición a ocrelizumab inicial es de aproximadamente 0,6 gramos. En algunos modos de realización, la segunda exposición a ocrelizumab es de aproximadamente 0,6 gramos. En algunos modos de realización, la segunda exposición se administra de aproximadamente 20-24 semanas desde la exposición inicial. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a un punto temporal entre 20 semanas y 24 semanas. En algunos modos de realización, "aproximadamente 20-24 semanas" se refiere a una variación de una semana o 7 días antes o después de la semana 24. En algunos modos de realización, una o más de las exposiciones a ocrelizumab se proporcionan al paciente como una dosis de ocrelizumab. En algunos modos de realización, una o más de las exposiciones a ocrelizumab se proporcionan al paciente como dos dosis de ocrelizumab. En algunos modos de realización, las dos dosis de ocrelizumab comprenden aproximadamente 0,3 gramos de ocrelizumab.

En determinados modos de realización, el artículo de fabricación o kit comprende un recipiente y una ficha técnica o prospecto del envase en o asociado con el recipiente. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringuillas, etc. Los recipientes se pueden formar a partir de variedad de materiales, tales como vidrio o plástico. El recipiente tiene o contiene una composición que es eficaz para tratar la esclerosis múltiple y puede tener un orificio de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja para inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es el anticuerpo. En algunos modos de realización, el recipiente comprende entre aproximadamente 0,3 a aproximadamente 4,0 gramos del anticuerpo anti-CD20. En algunos modos de realización, el recipiente comprende entre aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,5 gramos del anticuerpo anti-CD20.

La ficha técnica o prospecto del envase indica que la composición se usa para tratar esclerosis múltiple en un paciente que padece la misma con unas directrices específicas con respecto a cantidades e intervalos de dosificación del anticuerpo y de cualquier otro fármaco que se proporcione. El artículo de fabricación puede comprender además un segundo recipiente que comprende un tampón diluyente farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyectables (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. El artículo de fabricación puede incluir además otros materiales deseables desde un punto

de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringuillas.

Opcionalmente, el artículo de fabricación o kit proporcionado en el presente documento comprende además un recipiente que comprende un agente distinto del anticuerpo para el tratamiento y que comprende además instrucciones sobre el tratamiento del paciente con dicho agente, siendo dicho agente preferentemente un agente quimioterápico o agente inmunodepresor, fármaco de clase interferón tal como IFN-beta-1a (REBIF® y AVONEX®) o IFN-beta-1b (BETASERON®); un oligopéptido tal como acetato de glatirámico (COPAXONE®); un agente citotóxico tal como mitoxantrona (NOVANTRONE®), metotrexato, ciclofosfamida, clorambucilo o azatioprina; inmunoglobulina intravenosa (gammaglobulina); fármaco reductor de linfocitos (por ejemplo, mitoxantrona, ciclofosfamida, Campath, anti-CD4 o cladribina); fármaco inmunodepresor no reductor de linfocitos (por ejemplo, micofenolato de mofetilo (MMF) o ciclosporina); fármaco reductor de colesterol de la clase "estatinas"; estradiol; tratamiento de reemplazo hormonal; fármaco que trata síntomas secundarios o relacionados con EM (por ejemplo, espasticidad, incontinencia, dolor, fatiga); un inhibidor de TNF; fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (DMARD); fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE); corticoesteroide (por ejemplo, metilprednisolona, prednisona, dexametasona o glucocorticoide); levotiroxina; ciclosporina A; análogo de somatostatina; citocina o antagonista de receptor de citocina; anti-metabolito; agente inmunodepresor; anticuerpo para o antagonista de integrina (por ejemplo, un anticuerpo para LFA-1, tal como efalizumab o anticuerpo para integrina alfa 4 tal como natalizumab); y otro anticuerpo para marcador de superficie de linfocitos B; etc.

Ejemplos

Ejemplo 1 (referencia): estudios de fase III de ocrelizumab en comparación con interferón beta-1a (Rebif) en pacientes con esclerosis múltiple recidivante

La esclerosis múltiple es una enfermedad heterogénea con un curso de enfermedad impredecible y sin cura (Scafari *et al.* (2013) *JAMA Neurol.* 70, 214-22; Tremlett *et al.* (2006) *Neurology.* 66, 172-7; Markowitz (2010) *Am J Manag Care.* 16, S211-8; Hauser *et al.* (2013) *Ann Neurol.* 74, 317-27). A pesar de que varios tratamientos para las formas recidivantes de esclerosis múltiple están disponibles en los últimos años, muchos pacientes continúan acumulando discapacidad neurológica, por tanto sigue existiendo una importante necesidad insatisfecha de tratamientos más eficaces y bien tolerados (Markowitz (2010) *Am J Manag Care.* 16, S211-8; Rotstein *et al.* (2015) *JAMA Neurol.* 72, 152-8; Sorensen (2007) *J Neurol Sci.* 259, 128-32). Además, el perfil de riesgo de tratamientos de mayor eficacia hasta ahora ha evitado su uso temprano en el curso de enfermedad (Markowitz (2010) *Am J Manag Care.* 16, S211-8; Hartung *et al.* (2011) *Expert Rev Neurother.* 11, 351-62; Hauser SL. (2015) *Mult Scler.* 21, 8-21).

Los linfocitos B son un contribuyente clave para la patogenia de la esclerosis múltiple (Monson (2005) *J Neuroimmunol.* 158, 170-81; Hauser SL. (2015) *Mult Scler.* 21, 8-21). Los linfocitos B rara vez se observan en el líquido cefalorraquídeo de controles sanos, pero con frecuencia se encuentran en porcentajes bajos en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con esclerosis múltiple (Cepok (2005) *Brain.* 128, 1667-76; Cross *et al.* (2011) *Biochim Biophys Acta.* 1812, 231-8) los niveles elevados en el líquido cefalorraquídeo se correlacionan con una mayor progresión de enfermedad en esclerosis múltiple recidivante-remitente y esclerosis múltiple progresiva secundaria (Cepok (2005) *Brain.* 128, 1667-76). Los linfocitos B influyen en la patogenia subyacente de esclerosis múltiple por medio de una serie de funciones: presentación de antígenos (Constant (1999) *J Immunol.* 162, 5695-703; Crawford *et al.* (2006) *J Immunol.* 176, 3498-506), producción de autoanticuerpos (Bar-Or A (2010) *Ann Neurol.* 67, 452-61; Duddy (2007) *J Immunol.* 178, 6092-9), regulación de citocinas (Genain *et al.* (1999) *Nat Med.* 5, 170-5; Storch *et al.* (1998) *Ann Neurol.* 43, 465-71) y formación de agregados similares a folículos linfáticos ectópicos (Magliozzi *et al.* (2010) *Ann Neurol.* 68, 477-93; Serafini *et al.* (2004) *Brain Pathol.* 14, 164-74). El interés en los linfocitos B se ha incrementado con estudios de viabilidad y observacionales y el interés en su utilidad en la esclerosis múltiple ha evolucionado con el tiempo (Hauser *et al.* (2008) *N Engl J Med.* 358, 676-88; Kappos *et al.* (2011) *Lancet.* 378, 1779-87; Lehmann-Horn *et al.* (2013) *Ther Adv Neurol Disord.* 6, 161-73).

CD20 es un antígeno de superficie celular hallado en prelinfocitos B, linfocitos B maduros y de memoria, pero no se expresa en linfocitos plasmocitos (Stashenko *et al.* (1980) *J Immunol.* 125, 1678-85; Loken *et al.* (1981) *Blood.* 70, 1316-24; Tedder *et al.* (1994) *Immunol Today.* 15, 450-4). En el estudio HERMES, rituximab, un anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD20, redujo significativamente las lesiones cerebrales inflamatorias y las recidivas clínicas en comparación con el placebo en pacientes con esclerosis múltiple recidivante-remitente; por tanto, proporciona pruebas de que la disminución selectiva de linfocitos B CD20⁺ es un enfoque de tratamiento potencialmente eficaz en la esclerosis múltiple (Kappos *et al.* (2011) *Lancet.* 378, 1779-87).

Ocrelizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado recombinante que disminuye selectivamente linfocitos B que expresan CD20 (Klein *et al.* (2013) *MAbs.* 5, 337-8; Genovese *et al.* (2008) *Arthritis Rheum.* 58, 2652-61) mientras que conserva la capacidad de reconstitución de linfocitos B y la inmunidad humoral preexistente (Martin *et al.* (2006) *Annu Rev Immunol.* 24, 467-96; DiLillo *et al.* (2008) *J Immunol.* 180, 361-71). Ocrelizumab se une al gran bucle extracelular de CD20 con alta afinidad, reduciendo selectivamente los linfocitos B por medio de varios mecanismos que incluyen fagocitosis celular dependiente de anticuerpos, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, citotoxicidad dependiente del complemento e inducción de apoptosis (Klein *et al.* (2013) *MAbs.* 5, 22-

33).

Se llevaron a cabo dos ensayos idénticos de fase 3, multicéntricos, aleatorizados, con doble enmascaramiento, doble simulación, de grupos paralelos (ESTUDIO I y ESTUDIO II) para investigar la eficacia y seguridad de ocrelizumab en comparación con interferón (IFN) β -1a en pacientes con formas recidivantes de esclerosis múltiple. Los resultados de estos dos estudios se informan aquí.

Procedimientos

Criterios de elegibilidad y exclusión

Los criterios de elegibilidad clave incluyeron: una edad de 18 a 55 años; un diagnóstico de esclerosis múltiple de acuerdo con los criterios de McDonald revisados en 2010 (Polman *et al.* (2011) "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria". *Ann Neurol* 69, 292-302); una puntuación de la escala ampliada del estado de discapacidad (EDSS, véase world-wide-web.neurostatus.org) de 0 a 5,5 en el cribado; al menos dos ataques clínicos documentados dentro de los 2 años previos o un ataque clínico ocurrido dentro del año anterior al cribado (pero no dentro de los 30 días anteriores al cribado); RMN documentada del cerebro con anomalías consecuentes con esclerosis múltiple; estabilidad neurológica durante al menos 30 días antes tanto del cribado como del inicio.

Los criterios de exclusión clave incluyeron: un diagnóstico de esclerosis múltiple progresiva primaria; pacientes con una duración de enfermedad de más de 10 años en combinación con una puntuación EDSS de menos de o igual a 2,0 en el cribado; presencia conocida de otros trastornos neurológicos que pueden imitar la esclerosis múltiple; embarazo o lactancia; tratamiento previo con cualquier tratamiento dirigido a linfocitos B u otros medicamentos contraindicados (es decir, requisito para tratamiento crónico con corticoesteroides sistémicos o inmunodepresores durante el curso del estudio, antecedentes de o inmunodeficiencia primaria o secundaria actualmente activa, infección activa o antecedentes de o presencia conocida de infección recidivante o crónica (por ejemplo, hepatitis B o C, VIH, sífilis, tuberculosis), antecedentes de leucoencefalopatía multifocal progresiva, contraindicaciones a o intolerancia a corticoesteroides orales o intravenosos, o contraindicaciones a Rebif o incompatibilidad con el uso de Rebif).

Diseño del estudio

Los pacientes se aleatorizaron (1:1) para recibir 600 mg de ocrelizumab por infusión intravenosa cada 24 semanas (administrados como dos infusiones de 300 mg los días 1 y 15 para la primera dosis, y como una única infusión de 600 mg el día 1 para cada tanda de tratamiento de 24 semanas después de esto), o bien IFN β -1a subcutáneo tres veces por semana a una dosis de 44 μ g durante todo el período de tratamiento de 96 semanas. Véase la FIG. 7. Los pacientes en el grupo de ocrelizumab y el grupo de IFN β -1a también recibieron placebos por vía subcutánea e intravenosa, respectivamente. Todos los pacientes recibieron 100 mg de metilprednisolona intravenosa (y analgésicos/antipiréticos y antihistamínicos opcionales) antes de la infusión. La aleatorización se realizó de forma centralizada por un proveedor independiente. Los pacientes se estratificaron por región (EE. UU./resto del mundo) y puntuación EDSS de referencia (menor que 4/mayor que o igual a 4).

Para mantener la ocultación de las asignaciones de grupo de estudio, cada centro de estudio tenía investigadores responsables separados (neurólogos con experiencia en el cuidado de esclerosis múltiple) e investigadores examinadores (neurólogos u otros profesionales de la salud), todos con enmascaramiento durante el curso del ensayo. Los investigadores responsables tuvieron acceso a datos de seguridad y eficacia con enmascaramiento y tomaron decisiones de tratamiento en base a los hallazgos analíticos y la respuesta clínica del paciente. Los investigadores examinadores realizaron las evaluaciones neurológicas, incluyendo las puntuaciones EDSS (Kurtze (1983) "Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS)". *Neurology*. 33, 1444-52), las puntuaciones del sistema funcional (Kurtze (1983) "Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS)". *Neurology*. 33, 1444-52; Haber y LaRocca, eds. *Minimal Record of Disability for multiple sclerosis*. New York: National Multiple Sclerosis Society; 1985), el compuesto funcional de esclerosis múltiple (MSFC) (Rudick *et al.* (2002) "The multiple sclerosis functional composite: a new clinical outcome measure for multiple sclerosis trials". *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)* 8, 359-65), pruebas de agudeza visual de bajo contraste (LCVA) (Wieder *et al.* (2013) "Low contrast visual acuity testing is associated with cognitive performance in multiple sclerosis: a pilot study". *BMC Neurology*. 13, 167), la prueba de modalidades de símbolos y números (SDMT) (Smith A. (1982). *Symbol digit modalities test: Manual*. Los Angeles: Western Psychological Services), y la escala del estado funcional de Karnofsky (Mor *et al.* "The Karnofsky Performance Status Scale. An examination of its reliability and validity in a research setting". *Cancer*. 53. 2002-2007). Las evaluaciones de RMN se analizaron independientemente por un lector de RMN central con enmascaramiento de la asignación del tratamiento.

Los pacientes que completaron el período de tratamiento de 96 semanas fueron elegibles para incluirse en la fase de extensión abierta del estudio. Los pacientes que interrumpieron prematuramente o que no quisieron participar en la extensión abierta se incluyeron en la fase de seguimiento de seguridad de 48 semanas, que incluyó la

supervisión de linfocitos B.

Procedimientos de estudio

Las puntuaciones de EDSS se determinaron en el cribado, antes de iniciar el estudio y cada 12 semanas; las puntuaciones de MSFC, LCVA y SDMT se determinaron antes de iniciar el estudio y cada 12 semanas; y la escala de estado de rendimiento de Karnofsky se determinó antes de iniciar el estudio y cada 24 semanas. Se realizó una RMN antes de iniciar el estudio y las semanas 24, 48 y 96. Los acontecimientos adversos se supervisaron durante todo el estudio.

El criterio de valoración principal fue la tasa de recidiva definida por protocolo anualizada a las 96 semanas, en la que las recidivas se definieron como síntomas neurológicos nuevos o de empeoramiento que persisten durante más de 24 horas que son atribuibles solo a esclerosis múltiple. Los síntomas neurológicos nuevos o de empeoramiento se deben acompañar de un empeoramiento neurológico objetivo consecuente con un incremento de al menos media etapa en la EDSS, o 2 puntos en una puntuación del sistema funcional de EDSS, o 1 punto en cada una de dos o más puntuaciones del sistema funcional de EDSS. Las recidivas se reclasificaron como recidivas definidas por protocolo por un algoritmo automatizado siguiendo las reglas descritas anteriormente. El algoritmo se escribió antes del cierre de la base de datos y el desenmascaramiento de los datos.

Los criterios de valoración secundarios clave incluyeron: tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada a las 12 semanas (es decir, CDP), definida en el estudio como un incremento de al menos 1,0 punto de la puntuación EDSS de referencia en pacientes con una puntuación de referencia de 5,5 o menos, o un incremento de 0,5 puntos en pacientes con una puntuación de referencia superior a 5,5, durante las 96 semanas, en el que los incrementos en la EDSS se confirmaron en una visita programada regularmente al menos 12 semanas después del empeoramiento neurológico inicial; número total de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 las semanas 24, 48 y 96; número total de lesiones hiperintensas en T2 nuevas y/o en aumento las semanas 24, 48 y 96; proporción de pacientes que tienen una mejora de discapacidad confirmada a las 12 semanas (es decir, CDI) durante las 96 semanas (solo analizada para el subgrupo de pacientes con una puntuación EDSS de referencia de al menos 2,0); tiempo hasta la aparición de CDP a las 24 semanas, confirmado a las 24 semanas después del empeoramiento neurológico inicial, durante las 96 semanas; farmacocinética, inmunogenicidad y farmacodinamia de ocrelizumab; y seguridad y tolerabilidad de ocrelizumab. La CDI en el estudio se define como una reducción en la puntuación EDSS de al menos 1,0 en comparación con el valor de referencia en pacientes con una puntuación EDSS de referencia de 5,5 o menos, o una reducción de 0,5 puntos en pacientes con una puntuación EDSS de referencia por encima de 5,5.

La proporción de pacientes con una puntuación EDSS $\geq 2,0$ que no tienen pruebas de actividad de la enfermedad (NEDA) la semana 96; el análisis de NEDA en todos los pacientes fue un criterio de valoración explorador. Cambio en porcentaje en volumen cerebral detectado por RMN cerebral desde la semana 24 hasta la semana 96; el análisis desde el inicio hasta la semana 96 también se realizó como un análisis explorador.

Análisis estadístico

La jerarquía estadística se proporciona en la **FIG. 8**. Para lograr una potencia estadística suficiente para someter a prueba los efectos de ocrelizumab en CDP y CDI, se especificó previamente que estos criterios de valoración se agruparían para ambos estudios de fase III. Todos los otros criterios de valoración se analizaron por separado para cada estudio. Se realizaron análisis de eficacia principales y secundarios en la población por intención de tratar.

Todos los análisis de eficacia se realizaron en la población por intención de tratar. La tasa de recidiva anualizada (ARR), el criterio de valoración de eficacia principal, se analizó usando un modelo binomial negativo que incluyó, para cada paciente, la aparición entre los datos de aleatorización y la fecha de interrupción de tratamiento temprana/semana 96 en el análisis estadístico para tener en cuenta la duración de la exposición, y el grupo de tratamiento, la región (EE. UU./resto del mundo) y la puntuación EDSS de referencia (menor que 4,0/mayor que o igual a 4,0) como covariables. Un resultado significativo a un alfa bilateral de $<0,05$ demostraría un efecto superior de ocrelizumab en la reducción de ARR en comparación con IFN β -1a.

El tamaño de muestra para cada uno de los estudios se basó en una tasa de recidiva anualizada estimada de 0,165 para el grupo de ocrelizumab y 0,33 para el grupo de IFN β -1a. Usando una prueba de la t bilateral, se calculó que una muestra de 400 pacientes por rama proporcionaría una potencia estadística de un 84 % para mantener una tasa de error de tipo I de 0,05 y detectar una reducción relativa de un 50 % en ocrelizumab en comparación con IFN β -1a (suponiendo una tasa de abandono de aproximadamente un 20 %). Un análisis de sensibilidad por protocolo evaluó el efecto de las principales violaciones del protocolo en el criterio de valoración principal.

Se sometieron a prueba diez criterios de valoración de eficacia secundarios en orden jerárquico de importancia clínica decreciente en un alfa bilateral de 0,05 (véase la **FIG. 8**; ARR = tasa de recidiva anualizada; CDI = mejora de discapacidad confirmada; CDP = progresión de discapacidad confirmada; Gd = gadolinio; MSFC = compuesto

funcional de esclerosis múltiple; NEDA = sin evidencia de actividad de la enfermedad; SF-36 PCS = formulario breve 36, sumario de componente físico). NEDA se define como: sin recidivas definidas por protocolo, sin acontecimientos de CDP, sin lesiones en T2 nuevas o en aumento, y sin lesiones en T1 potenciadas con Gd. Los análisis de criterios de valoración de eficacia secundarios a nivel de estudio individual son como sigue:

• Para el primer criterio de valoración de eficacia secundario (el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas), el valor de p a nivel del estudio se interpretará como no confirmatorio, debido a una potencia estadística inadecuada a nivel del estudio para detectar diferencias de tratamiento pertinentes.

• El segundo criterio de valoración de eficacia secundario (número total de lesiones potenciadas con Gd en T1 las semanas 24, 48 y 96) se someterá a prueba de manera confirmatoria si y solo si, en el análisis de ambos estudios combinados, el primer criterio de valoración de eficacia secundario alcanza un nivel de significación de 0,05 (es decir, análisis agrupado $p \leq 0,05$). Si, en el análisis de los estudios combinados, el primer p del análisis agrupado de criterios de valoración de eficacia secundarios $> 0,05$, entonces el segundo y posteriores valores de p de criterios de valoración de eficacia secundarios dentro de la jerarquía se interpretarán como no confirmatorios.

• El tercer criterio de valoración de eficacia secundario (número total de lesiones hiperintensas en T2 nuevas y/o en aumento las semanas 24, 48 y 96) se someterá a prueba de manera confirmatoria si y solo si el segundo criterio de valoración de eficacia secundario (número total de lesiones potenciadas con Gd en T1 las semanas 24, 48 y 96) alcanza un nivel de significación de 0,05 (es decir, $p \leq 0,05$). Si el segundo p del criterio de valoración de eficacia secundario $> 0,05$, entonces el tercer y posteriores valores de p de criterios de valoración de eficacia secundarios dentro de la jerarquía se interpretarán como no confirmatorios.

• Para los criterios de valoración de eficacia secundarios cuarto (proporción de pacientes que tienen una mejora de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas) y quinto (tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas), el valor de p a nivel del estudio se interpretará como no confirmatorio, debido a una potencia estadística inadecuada a nivel del estudio para detectar diferencias de tratamiento pertinentes.

• El sexto criterio de valoración de eficacia secundario (número total de lesiones hipointensas en T1 nuevas (agujeros negros crónicos) las semanas 24, 48 y 96) se someterá a prueba de manera confirmatoria si y solo si, en el análisis de los estudios combinados, el quinto criterio de valoración de eficacia secundario (tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas) alcanza un nivel de significación de 0,05 (es decir, análisis agrupado $p \leq 0,05$). Si, en el análisis de ambos estudios combinados, el quinto p del análisis agrupado de criterios de valoración de eficacia secundarios $> 0,05$, entonces el sexto y posteriores valores de p de criterios de valoración de eficacia secundarios dentro de la jerarquía se interpretarán como no confirmatorios.

• El séptimo (y posterior) criterio de valoración de eficacia secundario se someterá a prueba de manera confirmatoria si y solo si el sexto (o inmediatamente previo) criterio de valoración de eficacia secundario alcanza un nivel de significación de 0,05 (es decir, $p \leq 0,05$). Si el sexto (o inmediatamente previo) p del criterio de valoración de eficacia secundario $> 0,05$, entonces el séptimo (o actual) y todos los valores posteriores de p de criterios de valoración de eficacia secundarios dentro de la jerarquía se interpretarán como no confirmatorios.

Además, para los análisis de los criterios de valoración de eficacia secundarios donde se combinan los datos de ambos estudios (por lo que hay suficiente potencia estadística para todas las comparaciones de criterios de valoración de eficacia principales y secundarios):

• El primer criterio de valoración de eficacia secundario (el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas) se someterá a prueba de manera confirmatoria si y solo si el criterio de valoración de eficacia principal (tasa de recidiva definida por protocolo anualizada en 2 años) alcanza un nivel de significación de 0,05 (es decir, análisis agrupado $p \leq 0,05$). Si el análisis agrupado del criterio de valoración de eficacia principal $p > 0,05$, entonces todos los valores de p del análisis agrupado de criterios de valoración de eficacia secundarios dentro de la jerarquía se interpretarán como no confirmatorios.

• El segundo (y posterior) criterio de valoración de eficacia secundario se someterá a prueba de manera confirmatoria si y solo si el primer (o inmediatamente previo) criterio de valoración de eficacia secundario alcanza un nivel de significación de 0,05 (es decir, análisis agrupado $p \leq 0,05$). Si el primer (o inmediatamente previo) p del análisis agrupado de criterio de valoración de eficacia secundario $> 0,05$, entonces el segundo (o actual) y todos los valores de p de análisis agrupados de criterios de valoración de eficacia secundarios posteriores dentro de la jerarquía se interpretarán como no confirmatorios.

Se usó la población de seguridad para todos los análisis de datos de seguridad e incluyó a todos los pacientes que han recibido cualquier tratamiento de estudio.

Resultados

Pacientes

5

En total, se incluyeron 1656 pacientes en los estudios de fase III primero (N=821) y segundo (N=835) (población por intención de tratar). Las características de enfermedad y datos demográficos de referencia fueron similares entre las poblaciones dentro de cada estudio y entre los dos estudios (véase la **tabla 3**).

Tabla 3. Características de enfermedad y datos demográficos de referencia.

CARACTERÍSTICA	ESTUDIO II		ESTUDIO II	
	IFN β-1a 44 µg (n=411)	Ocrelizumab 600 mg (n=410)	IFN β-1a 44 µg (n=418)	Ocrelizumab 600 mg (n=417)
Edad, año, media (DE)	36,9 (9,3)	37,1 (9,3)	37,4 (9,0)	37,2 (9,1)
Sexo femenino, n (%)	272 (66,2)	270 (65,9)	280 (67,0)	271 (65,0)
Tiempo desde la aparición, años, media (DE)	6,3 (6,0)	6,7 (6,4)	6,7 (6,1)	6,7 (6,1)
Tiempo desde el diagnóstico, años, media (DE)	3,7 (3,6)	3,8 (4,8)	4,1 (5,1)	4,2 (5,0)
Recidivas en los 12 meses previos, media (DE)	1,3 (0,6)	1,3 (0,7)	1,3 (0,7)	1,3 (0,7)
Sin tratamiento previo, n.º (%) [†]	292 (71,4)	301 (73,8)	314 (75,3)	304 (72,9)
Puntuación media en EDSS	2,8 (1,3)	2,9 (1,2)	2,8 (1,4)	2,8 (1,3)
Lesiones potenciadas con gadolinio en T1, n.º (%)				
0	252 (61,9)	233 (57,5)	243 (58,6)	252 (61,0)
1	52 (12,8)	64 (15,8)	62 (14,9)	58 (14,0)
2	30 (7,4)	30 (7,4)	38 (9,2)	33 (8,0)
3	16 (3,9)	16 (3,9)	14 (3,4)	15 (3,6)
>4	57 (14,0)	57 (14,0)	58 (14,0)	55 (13,3)
Lesiones en T2, n.º	51,06±39,91	51,04±39,00	51,01±35,69	49,26±38,59
Volumen de lesiones en T2 - cm ³	9,74±11,28	10,84±13,90	10,61±12,30	10,73±14,28
Volumen cerebral normalizado - cm ³	1499,18±87,68	1500,93±84,10	1501±90,98	1503±92,63
Pacientes sin lesiones Gd ⁺ , n (%)	233 (61,9)	233 (57,5)	243 (58,6)	252 (61,0)
Pacientes con lesiones Gd ⁺ , n (%)	155 (38,1)	172 (42,5)	172 (41,4)	161 (39,0)
Número de lesiones en T1 Gd ⁺ , media (DE)	1,9 (5,2)	1,7 (4,2)	2,0 (4,9)	1,8 (5,0)
Número de lesiones en T2, media (DE)	51,1 (39,9)	51,0 (35,7)	51,0 (35,7)	49,3 (38,6)

[†] Pacientes no tratados con tratamiento modificador de enfermedad en los 2 años anteriores a la entrada en el estudio

Un total de 366 (89 %) y 340 (83 %) pacientes en las ramas de ocrelizumab e IFN β -1a, respectivamente, completaron el primer estudio (véase la **FIG. 9**), y 360 (86 %) y 320 (77 %) en las ramas de ocrelizumab e IFN β -1a en el segundo estudio (véase la **FIG. 9**). Más de un 85 % de los pacientes de las ramas de ocrelizumab completaron el ESTUDIO I y el ESTUDIO II. Todos los pacientes aleatorizados se incluyeron en la población ITT.

5 Los pacientes que se retiraron prematuramente de los estudios por cualquier motivo y los pacientes para los que no se realizaron evaluaciones por cualquier motivo todavía se incluyeron en el análisis ITT (intención de tratar).

Eficacia

- 10 Los resultados clínicos y de RMN del primer y segundo estudios se resumen en la **tabla 4**. La frecuencia de recidivas de esclerosis múltiple se redujo con ocrelizumab en ambos estudios, con una tasa de recidiva anualizada ajustada (ARR) a las 96 semanas (criterio de valoración principal) de 0,156 para ocrelizumab (frente a 0,292 para IFN β -1a) en el ESTUDIO I y 0,155 para ocrelizumab (frente a 0,290 para IFN β -1a) en el ESTUDIO II (véanse la **tabla 4** y las **FIGS. 10A y 10B**). Las tasas de recidiva anualizadas (basadas en las recidivas definidas por protocolo)
- 15 en pacientes tratados con ocrelizumab se redujeron en un 46 % y un 47 % frente a IFN β -1 en el ESTUDIO I y ESTUDIO II, respectivamente ($p < 0,0001$ para ambas comparaciones). Las tasas de recidiva anualizadas (basadas en las recidivas definidas por protocolo) en pacientes tratados con ocrelizumab se redujeron en un 46 % frente a IFN β -1 (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p = 0,0001$). La ARR ajustada se calculó por regresión binomial y se ajustó para la puntuación EDSS de referencia ($< 4,0$ frente a $\geq 4,0$) y la localización geográfica (EE. UU. frente
- 20 al resto del mundo). Las tasas de recidiva anualizadas (basadas en todas las recidivas clínicas) en pacientes tratados con ocrelizumab se redujeron en un 42 % ($p = 0,001$) y un 47 % ($p < 0,0001$) frente a IFN β -1 en el ESTUDIO I y ESTUDIO II, respectivamente.

Tabla 4. Criterios de valoración clínicos y de RMN durante el estudio de 96 semanas (población ITT)*

Criterio de valoración	ESTUDIO agrupado I y II		ESTUDIO I		ESTUDIO II	
	IFN β -1a 44 μ g (n=829)	Ocrelizumab 600 mg (n=827)	IFN β -1a 44 μ g (n=411)	Ocrelizumab 600 mg (n=410)	IFN β -1a 44 μ g (n=418)	Ocrelizumab 600 mg (n=417)
Criterios de valoración clínicos						
Tasa de recidiva anualizada a las 96 semanas Tasa (IC 95 %)						
Reducción de riesgo frente a IFN β -1 - % (IC 95 %; valor de p)		46 (p<0,0001)	0,292 (0,235-0,361)	0,156 (0,122-0,200) 46 (p<0,0001)	0,290 (0,234-0,361)	0,155 (0,121-0,198) 47 (p<0,0001)
Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas[†] Pacientes con acontecimiento - % Cociente de riesgos instantáneos frente a IFN β -1a (IC 95 %) +	13,6	9,1 0,60 (0,45-0,81) 40 (p=0,0006)		0,57 (0,37-0,90) 43 (p=0,0139)		0,63 (0,42-0,92) 37 (p<0,0169)
Reducción de riesgo frente a IFN β -1a - % (valor de p)						
Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas[†] Pacientes con acontecimiento - % Cociente de riesgos instantáneos frente a IFN β -1a (IC 95 %)	10,5	6,9 0,60 (0,43-0,84) 40 (p=0,0025)		0,57 (0,34-0,95) 43 (p=0,0278)		0,63 (0,40-0,98) 37 (p=0,0370)
Reducción de riesgo frente a IFN β -1a - % (valor de p)						
Mejora de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas^{†,‡} N.º de pacientes evaluados Pacientes con mejora mantenida durante 12 semanas - % Mejora relativa frente a IFN β -1a- % (valor de p)	614 15,6	628 20,7 33 (p=0,0194)		61 (p=0,0106)		14 (p=0,4019)
Puntuación del compuesto funcional de esclerosis múltiple						

Cambio medio en la puntuación MSFC desde el inicio hasta la semana 96			0,174±0,031	0,213±0,031)	0,169±0,029	0,276±0,028
Diferencia en la media ajustada (IC 95 %, valor de p)				0,039±0,039 (-0,039-0,166; p = 0,3261)		0,107±0,037 (0,034-0,180; p=0040)
NEDA en la semana 96 [†] § N.º de pacientes evaluados Pacientes con NEDA - % Mejora relativa frente a IFN β-1a - % (valor de p)			291 27,1	289 47,4 74 (p<0,0001)	270 24,1	289 43,9 81 (p<0,0001)
Componentes de NEDA en la semana 96 [†] § - % Pacientes sin recidiva Pacientes sin progresión de discapacidad confirmada Pacientes sin lesiones potenciadas con gadolinio en T1 Pacientes sin lesiones hiperintensas en T2 nuevas y/o en aumento			66,7 87,8 69,8 38,7	80,4 92,4 91,7 61,7	64,3 84,9 63,9 38,0	78,9 89,4 90,2 60,9
Criterios de valoración de RMN						
Lesiones potenciadas con gadolinio en T1 las semanas 24, 48 y 96 Pacientes con cualquier lesión potenciada con gadolinio en T1 N.º medio de lesiones (IC 95 %) Reducción de riesgo frente a IFN β- 1a - % (valor de p)			30,2 0,286 (0,200-0,409)	8,3 0,016 (0,0009- 0,030) 94 (p<0,0001)	36,1 0,416(0,309- 0,561)	9,8 0,021 (0,012- 0,036) 95 (p<0,0001)

Lesiones hiperintensas en T2 nuevas y/o en aumento las semanas 24, 48 y 96 Pacientes con lesiones hiperintensas en T2 nuevas y/o en aumento - % N.º medio de lesiones (IC 95 %) Cociente de tasas (IC 95 %)			61,3 1,413 (1,123-1,777)	38,3 0,323 (0,256-0,407) 0,229 (0,174-0,300) 77 (P<0,0001)	62,0 1,904 (1,536-2,359)	39,1 0,325 (0,259-0,409) 0,171 (0,130-0,225) 83 (P<0,0001)
Reducción de riesgo frente a IFN β- 1a - % (valor de p)						
Lesiones hipointensas en T1 las semanas 24, 48 y 96 N.º medio de lesiones (IC 95 %) Cociente de tasas (IC 95 %) Reducción de riesgo frente a IFN β- 1a - % (valor de p)			0,982 (0,780-1,237)	0,420 (0,337-0,524) 0,428 (0,328-0,557) 57 (P<0,0001)	1,255 (1,003-1,571)	0,449 (0,357-0,560) 0,357 (0,272-0,470) 64 (P<0,0001)
Volumen cerebral de la semana 24-96 Cambio medio Valor de p Diferencia media en medias ajustadas (IC 95 %)			-0,741±0,046	-0,572±0,044 P=0,0042 0,168 (0,053-0,283)	-0,750±0,051	0,638±0,049 P=0,0900 0,112 (-0,018- 0,241)
Volumen cerebral desde el inicio hasta la semana 96** Cambio en porcentaje medio Valor de p Diferencia media en medias ajustadas (IC 95 %)			-1,233±0,055	-0,943±0,054 p<0,0001 0,290 (0,148-0,432)	-1,354±0,064	-1,032±0,062 p<0,0001 0,322 (0,156-0,488)

Resultados informados por paciente						
Sumario de componente físico del formulario breve 36 desde el inicio hasta la semana 96						
Media						
Valor de <i>p</i>						
Diferencia en medias ajustadas						

*Los valores más-menos son medias ± desviación estándar

† El texto en negrita indica criterios de valoración agrupados preespecificados

‡ En pacientes con puntuación EDSS de referencia de al menos 2,0

§ NEDA se define como: sin recidivas definidas por protocolo, sin acontecimientos CDP, sin lesiones en T2 nuevas o en aumento y sin lesiones potenciadas con gadolinio Ajustado por recuento de lesiones iniciales, EDSS (<4,0 / ≥4,0), y región geográfica (EE. UU. / ROW)

Discapacidad

En comparación con IFN β -1a, ocrelizumab redujo el riesgo de progresión de discapacidad confirmada (es decir, CDP) que se mantuvo durante 12 semanas en un 40 % durante el período de estudio de 96 semanas (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0006$; **FIG. 11**, IC = intervalo de confianza; CRI = cociente de riesgos instantáneos). Los datos no agrupados para el ESTUDIO I y ESTUDIO II que muestran que ocrelizumab redujo el riesgo de progresión de discapacidad confirmada (es decir, CDP) que se mantuvo durante 12 semanas en comparación con IFN β -1a se muestran en las **FIG. 12A** (ESTUDIO I) y **FIG. 12B** (ESTUDIO II). Ocrelizumab también redujo el riesgo de CDP que se mantuvo durante 24 semanas en un 40 % frente a IFN β -1a durante el período de estudio de 96 semanas (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0025$; **FIG. 13**). Los datos no agrupados para el ESTUDIO I y ESTUDIO II que muestran que ocrelizumab redujo el riesgo de progresión de discapacidad confirmada (es decir, CDP) que se mantuvo durante 24 semanas en comparación con IFN β -1a se muestran en las **FIG. 14A** y **FIG. 14B**. La proporción de pacientes (con una puntuación EDSS de referencia de 2,0 o más) con mejora de discapacidad confirmada (es decir, CDI) durante al menos 12 semanas fue de un 20,7 % en pacientes que recibieron ocrelizumab ($n=628$) frente a un 15,6 % en pacientes que recibieron IFN β -1a ($n=614$), lo que representa una mejora del riesgo de un 33 % con ocrelizumab (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0194$). Véase la **FIG. 15A**. La proporción de pacientes (con una puntuación EDSS de referencia de 2,0 o más) con mejora de discapacidad confirmada (es decir, CDI) durante al menos 12 semanas fue de un 15,6 % en pacientes que recibieron ocrelizumab ($n=628$) frente a un 11,6 % en pacientes que recibieron IFN β -1a ($n=614$), lo que representa una mejora del riesgo de un 36 % con ocrelizumab (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0343$). Véase la **FIG. 15B**. Para los pacientes con una puntuación EDSS de referencia $\geq 2,0$ y $\leq 5,5$, la mejora de la discapacidad se definió como una reducción en la puntuación EDSS $\geq 1,0$ punto en comparación con la puntuación EDSS de referencia. Para los pacientes con una puntuación EDSS de referencia $> 5,5$, la mejora de la discapacidad se definió como una reducción en la puntuación EDSS $\geq 0,5$ puntos. El valor de p para la mejora relativa es de la prueba de la χ^2 de Cochran-Mantel-Haenszel, estratificada por estudio, puntuación EDSS de referencia ($<4,0$ frente a $\geq 4,0$) y región geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo), e incluye factores de estratificación. Los pacientes con falta de EDSS o sin confirmación después de la aparición de mejora de la discapacidad se cuentan como que no tienen CDI.

Los datos no agrupados para la proporción de pacientes (con una puntuación EDSS de referencia de 2,0 o más) con mejora de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas en el ESTUDIO I y ESTUDIO II se proporcionan en las **FIG. 16A** y **FIG. 16B**. Los datos no agrupados para los resultados de la puntuación del compuesto funcional de esclerosis múltiple se proporcionan en las **FIGS. 16C y 16D**. Las **FIGS. 16C y 16D** incluyen pacientes con evaluación antes de iniciar el estudio y al menos un valor posterior al inicio. Las estimaciones provienen del análisis basado en el modelo de efecto mixto de medidas repetidas (MMRM) usando una matriz de covarianza no estructurada: Cambio = Puntuación MSFCS de referencia + Región geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo) + EDSS de referencia ($<4,0$ frente a $\geq 4,0$) + Semana + Tratamiento + Tratamiento*Semana (valores repetidos durante la semana) + Puntuación MSFCS de referencia*Semana. Un 15,6 % de los pacientes tratados con ocrelizumab lograron CDI a las 24 semanas (frente a un 11,6 % de los pacientes tratados con IFN β -1a), lo que representa una mejora relativa de un 36 % (riesgo relativo 1,36 [$p=0,0343$]).

En los análisis agrupados, una mayor proporción de pacientes tratados con ocrelizumab tuvieron puntuaciones EDSS mejoradas (20,2 % [$n=146$]) en comparación con pacientes tratados con IFN β -1a (15,0 % [$n=98$]) (cociente de probabilidades ajustado [aOR] 1,288 [0,964, 1,72]; $p=0,0866$). En los análisis agrupados, significativamente menos pacientes en el grupo de ocrelizumab tuvo puntuaciones EDSS empeoradas (10,1 % [$n=73$]) en comparación con IFN β -1a (16,6 % [$n=109$]) (aOR 0,575 [0,414-0,797], $p=0,0009$). Véase la **FIG. 39**.

La discapacidad empeorada (medida como un incremento en la puntuación EDSS de $>0,5$ la semana 96 en comparación con el valor de referencia) se redujo en un 44 % en pacientes tratados con ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a en el ESTUDIO I ($p=0,0242$) y en un 44 % en pacientes tratados con ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a en el ESTUDIO II ($p=0,121$). (El valor de p para la disminución relativa en el empeoramiento proviene de la regresión logística multinomial, ajustada por la puntuación EDSS de referencia ($<4,0$ frente a $\geq 4,0$) y la región geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo)). La discapacidad empeorada (medida como un incremento en la puntuación EDSS de $>0,5$ la semana 96 en comparación con el valor de referencia) se redujo en un 43 % en pacientes tratados con ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0009$).

Criterios de valoración relacionados con RMN

En comparación con IFN β -1a, ocrelizumab redujo el número total de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 las semanas 24, 48 y 96 en un 94 % en el ESTUDIO I y un 95 % en el ESTUDIO II ($p<0,0001$ para ambos estudios; véanse la **tabla 4** y las **FIGS. 17A y 17B**). Ocrelizumab redujo el número total medio de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 en un 91 % la semana 24, en un 98 % la semana 48 y en un 95 % la semana 96 en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO I ($p<0,0001$ para todos los puntos temporales, véase la **FIG. 18A**). Ocrelizumab redujo el número total medio de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 en un 92 % la semana 24, en un 96 % la semana 48 y en un 97 % la semana 96 en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO II ($p<0,0001$ para todos

los puntos temporales, véase la **FIG. 18B**). Los resultados en las **FIGS. 17A-B y 18A-B** se ajustaron por medias calculadas por regresión binomial negativa y se ajustaron para la lesión Gd en T1 de referencia (presente o no) EDSS de referencia (<4,0 vs. $\geq 4,0$) y localización geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo). El número acumulado de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 se redujo en un 94 % en pacientes que recibieron ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0001$).

Ocrelizumab también redujo el número total de lesiones hiperintensas en T2 nuevas/en aumento las semanas 24, 48 y 96 en un 77 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO I y en un 83 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO II ($p<0,0001$ para ambas comparaciones; véanse la **tabla 4** y las **FIGS. 19A y 19B**). Como se muestra en la **FIG. 19C**, ocrelizumab redujo el número medio de lesiones hiperintensas en T2 nuevas/en aumento la semana 24 en un 41 %; la semana 48 en un 94 %; y la semana 96 en un 98 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO I. Como se muestra en la **FIG. 19D**, ocrelizumab redujo el número medio de lesiones hiperintensas en T2 nuevas/en aumento la semana 24 en un 61 %; la semana 48 en un 96 %; y la semana 97 en un 97 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO II. (Ajustado por medias calculadas por regresión binomial negativa y ajustado por recuento de lesiones en T2 de referencia, EDSS de referencia (<4,0 frente a $\geq 4,0$) y región geográfica (EE. UU. frente a ROW)). EDSS, escala ampliada del estado de discapacidad; IFN, interferón; RMN, resonancia magnética nuclear; ROW, resto del mundo. Ocrelizumab redujo la aparición de áreas más crónicas o en crecimiento de lesión cerebral relacionada con la EM (lesiones hiperintensas en T2) a las 24, 48 y 96 semanas en aproximadamente un 80 % en comparación con IFN β -1a (ESTUDIO I y ESTUDIO II agrupados). Los resultados en las **FIGS. 19A-D** se ajustaron por medias calculadas por regresión binomial negativa y se ajustaron para el recuento de lesiones en T2 de referencia, EDSS de referencia (<4,0 frente a $\geq 4,0$) y localización geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo). El número acumulado de lesiones en T2 nuevas y/o en aumento se redujo en un 80 % en pacientes que recibieron ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0001$).

Ocrelizumab ralentizó la pérdida de volumen cerebral desde la semana 24 hasta la semana 96 en comparación con IFN β -1a (ESTUDIO I, $p=0,0042$; ESTUDIO II, $p=0,0900$; **FIGS. 20A y 20B**). Ocrelizumab redujo la tasa de pérdida de volumen cerebral en un 18,8 % en comparación con IFN β -1a (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0015$; diferencia en las medias ajustadas (0,140; IC 95 %: 0,054, 0,226). Análisis basado en la población ITT con evaluación la semana 24 y al menos una posterior a la semana 24; valor de p basado en la medición de repetición del modelo de efecto mixto (MMRM) en la visita de la semana 96 ajustado por estudio, para el volumen cerebral de la semana 24, región geográfica y edad).

Ocrelizumab también ralentizó la pérdida de volumen cerebral desde el inicio hasta la semana 96 en comparación con IFN β -1a (ESTUDIO I, $p<0,0001$; ESTUDIO II, $p=0,0001$; **FIGS. 21A y 21B**). Los criterios de valoración en las **FIGS. 20A-B y 21A-B** se compararon usando la prueba de Cochran-Mantel-Haenszel estratificada por región geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo) y la puntuación EDSS de referencia (<4,0 frente a los criterios de valoración en las **FIGS. 20A-B y 21A-B** se compararon usando la prueba de Cochran-Mantel-Haenszel estratificada por región geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo) y la puntuación EDSS de referencia (<4,0 frente a $\geq 4,0$). Ocrelizumab redujo la tasa de pérdida de volumen cerebral desde la semana 24 hasta la semana 96 en un 22,8 % en el ESTUDIO I ($p=0,0042$) y en un 14,9 % en el ESTUDIO II ($p=0,0900$) en comparación con IFN β -1a. Véanse las **FIGS. 20A y B**. En el ESTUDIO I, la pérdida de volumen cerebral (desde el inicio hasta la semana 96) en pacientes tratados con ocrelizumab se redujo en un 23,5 % frente a pacientes tratados con IFN β -1a ($P<0,0001$). En el ESTUDIO II, la pérdida de volumen cerebral (desde el inicio hasta la semana 96) en pacientes tratados con ocrelizumab se redujo en un 23,8 % frente a pacientes tratados con IFN β -1a ($P=0,0001$). Véanse las **FIGS. 21A y B**.

Los pacientes tratados con ocrelizumab mostraron una reducción de un 18,8 % en la atrofia cerebral en comparación con pacientes tratados con IFN β -1a.

Ocrelizumab redujo el número total de lesiones hipointensas en T1 nuevas en un 57 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO I y en un 64 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO II. Véanse las **FIGS. 22A y 22B**. El número acumulado de lesiones hipointensas en T1 nuevas se redujo en un 62 % en pacientes que recibieron ocrelizumab frente a pacientes que recibieron IFN β -1a (ESTUDIO I y ESTUDIO II, datos agrupados; $p=0,0001$). Ocrelizumab redujo el número de lesiones hipointensas en T1 nuevas la semana 24 en un 27 %; la semana 48 en un 95 %; y la semana 96 en un 99 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO I. Ocrelizumab redujo el número de lesiones hipointensas en T1 nuevas la semana 24 en un 33 %; la semana 48 en un 95 %; y la semana 97 en un 96 % en comparación con IFN β -1a en el ESTUDIO II. (El número total de lesiones hipointensas en T1 nuevas para todos los pacientes en el grupo de tratamiento en cada punto temporal (en la semana 24, 48 o bien 96) se dividió entre el número total de RMN cerebrales en ese punto temporal. Ajustado por medias calculadas por regresión binomial negativa y ajustado por recuento de lesiones hipointensas en T1 de referencia, EDSS de referencia (<4,0 frente a $\geq 4,0$) y región geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo).

Los criterios de valoración de eficacia para el ESTUDIO I y ESTUDIO II se resumen en la **tabla 5**.

Tabla 5. Resumen de la eficacia para el ESTUDIO I y ESTUDIO II

Criterio de valoración	ESTUDIO I		ESTUDIO II		ESTUDIOS AGRUPADOS	
	Reducción de riesgo, Valor de <i>p</i>		Reducción de riesgo, Valor de <i>p</i>		Reducción de riesgo, Valor de <i>p</i>	
ARR	46 % <0,0001		47 % <0,0001		46 % <0,0001	
Tiempo hasta CDP 12 semanas	43 % 0,0139		37 % 0,0169		40 % 0,0006	
Lesiones Gd en T1 totales (semanas 24, 48, 96)	94 % <0,0001		95 % <0,0001		94 % <0,0001	
Lesiones en T2 nuevas /en aumento totales (semanas 24, 48, 96)	77 % <0,0001		83 % <0,0001		80 % <0,0001	
CDI 12 semanas	mejora de un 61 %, 0,0106		mejora de un 14 %, 0,4019		mejora de un 33 %, 0,0194	
Tiempo hasta CDP 24 semanas	43 % 0,0278		37 % 0,0370		40 % 0,0025	
Lesiones hipointensas en T1 totales (semanas 24, 48, 96)	57 % <0,0001		64 % <0,0001		62 % <0,0001	
Diferencia en MSFC media (desde el inicio hasta la semana 96)	p=0,3261		p=0,0040			
Diferencia en el volumen cerebral medio (de semana 24 a semana 96)	p=0,0042		p=0,090			
Cambio en SF-36 PCS (desde el inicio hasta la semana 96)	p=0,2193		p=0,0404			
NEDA en la semana 96 en pacientes con EDSS \geq 2,0	mejora de un 74 %, <0,0001		mejora de un 81 %, <0,0001		mejora de un 75 %, <0,0001	

En el ESTUDIO I, un 80,4 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron recidivas a las 96 semanas, frente a un 66,7 % de los pacientes tratados con IFN β -1a. En el ESTUDIO II, un 78,9 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron recidivas a las 96 semanas, frente a un 64,5 % de los pacientes tratados con IFN β -1a.

En el ESTUDIO I, un 92,4 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron CDP a las 96 semanas, frente a un 87,8 % de los pacientes tratados con IFN β -1a. En el ESTUDIO II, un 89,4 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron CDP a las 96 semanas, frente a un 84,9 % de los pacientes tratados con IFN β -1a.

En el ESTUDIO I, un 92,3 % de los pacientes tratados con ocrelizumab tenían discapacidad mejorada/estable frente a un 86,1 % de los pacientes tratados con IFN β -1a. En el ESTUDIO II, un 87,5 % de los pacientes tratados con ocrelizumab tenían discapacidad mejorada/estable frente a un 80,4 % de los pacientes tratados con IFN β -1a.

En el ESTUDIO I, un 7,7 % de los pacientes tratados con OCR tenían discapacidad empeorada frente a un 13,9 % de los pacientes tratados con IFN β -1a (cociente de probabilidades ajustado 0,559; $p=0,0242$). En el ESTUDIO II, un 12,5 % de los pacientes tratados con OCR tenían discapacidad empeorada frente a un 19,6 % de los pacientes tratados con IFN β -1a (cociente de probabilidades ajustado 0,577; $p=0,0121$).

En el ESTUDIO I, un 91,7 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron lesiones en T1 potenciadas con gadolinio a las 96 semanas, frente a un 69,8 % de los pacientes tratados con IFN β -1a. En el ESTUDIO II, un 90,2 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron lesiones en T1 potenciadas con gadolinio a las 96 semanas, frente a un 63,9 % de los pacientes tratados con IFN β -1a.

En el ESTUDIO I, un 61,7 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron lesiones en T2 nuevas/en aumento a las 96 semanas, frente a un 38,7 % de los pacientes tratados con IFN β -1a. En el ESTUDIO II, un 60,9 % de los pacientes tratados con ocrelizumab no presentaron lesiones en T2 nuevas/en aumento a las 96 semanas, frente a un 38,0 % de los pacientes tratados con IFN β -1a.

Después de la semana 24, $\geq 96,0$ % de todos los pacientes tratados con OCR no tenían lesiones en T2 nuevas/en aumento, en comparación con un 60,8-70,9 % de pacientes tratados con IFN β -1a.

[0429] Más pacientes que recibieron ocrelizumab informaron de una mejora en el cambio en la calidad de vida, como se mide por el sumario de componente físico (PCS) del formulario breve 36 (SF-36) que los pacientes que recibieron IFN β -1a. Véase la **FIG. 38**.

Seguridad

Acontecimientos adversos

La incidencia global de acontecimientos adversos fue de un 83,3 % y un 83,3 % para los pacientes tratados con IFN β -1a y ocrelizumab, respectivamente, en el ESTUDIO I y ESTUDIO II (agrupados). (Véase la **tabla 6A**).

Tabla 6A. Acontecimientos adversos (población de seguridad).

n (%)	ESTUDIO I Y ESTUDIO II AGRUPADOS	
	IFN β -1a 44 μ g (n=826)	Ocrelizumab 600 mg (n=825)
Número total de pacientes con ≥ 1 acontecimiento adverso (AA)	688 (83,3)	687 (83,3)
Número total de pacientes con ≥ 1 AA que se produce con frecuencia relativa ≥ 5 %	539 (65,3)	544 (65,9)
Lesiones, intoxicaciones y complicaciones quirúrgicas reacción relacionada con infusión	155 (18,8) 80 (9,7)	333 (40,4) 283 (34,3)
Trastornos generales y afecciones en el sitio de administración	396 (47,9)	173 (21,0)
Enfermedad similar a la gripe	177 (21,4)	38 (4,6)
Eritema en el sitio de inyección	127 (15,4)	1 (0,1)
Fatiga	64 (7,7)	64 (7,8)
Reacción en el sitio de inyección	45 (5,4)	2 (0,2)

Infecciones e infestaciones	433 (52,4)	482 (58,4)
Infección de las vías respiratorias superiores	87 (10,5)	125 (15,2)
Nasofaringitis	84(10,2)	122 (14,8)
Infección de las vías urinarias	100 (12,1)	96 (11,6)
Sinusitis	45 (5,4)	46 (5,6)
Bronquitis	29 (3,5)	42 (5,1)
Trastornos del sistema nervioso	252 (30,5)	224 (27,2)
Cefalea	124 (15,0)	93 (11,3)
Trastornos psiquiátricos	144 (17,4)	149 (18,1)
Depresión	54. (6,5)	64(7,8)
Insomnio	38 (4,6)	46 (5,6)
Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo	207 (25,1)	204 (24,7)
Dolor de espalda	37 (4,5)	53 (6,4)
Artralgia	51 (6,2)	46 (5,6)

La tabla 6A incluye solo los AA agrupados que se producen en ≥ 5 % de los pacientes en al menos un grupo de tratamiento y la correspondiente categoría de órgano, aparato o sistema.

5 **Tabla 6B. Acontecimientos adversos graves totales**

n (%)	IFN β -1a 44 μ g (n = 826)	Ocrelizumab 600 mg (n = 825)
Pacientes globales en general con \geq AAG	72 (8,7)	57 (6,9)
Infecciones e infestaciones	24 (2,9)	11 (1,3)
Trastornos del sistema nervioso	11 (1,3)	8 (1,0)
Lesiones, intoxicaciones y complicaciones quirúrgicas	10 (1,2)	6 (0,7)

Se informó de acontecimientos adversos graves en un 8,7 % de los pacientes tratados con IFN β -1a y en un 6,9 % de los pacientes tratados con OCRELIZUMAB en el ESTUDIO I y ESTUDIO II (agrupados). (véase la **tabla 6B**).

10 **Infecciones**

La incidencia de infección fue de un 52,8 % con IFN β -1a y un 56,6 % con ocrelizumab en el ESTUDIO I y de un 52,0 % con IFN β -1a y un 60,2 % con ocrelizumab en el ESTUDIO II. Las infecciones más comunes (informadas en al menos un 10 % de los pacientes en al menos una rama de tratamiento) fueron infecciones de las vías urinarias, infecciones de las vías respiratorias superiores y nasofaringitis. La incidencia de infección grave en ambos estudios fue baja (de un 1,2 a un 2,9 % en todas las ramas de tratamiento en ambos estudios). No se informó de infecciones oportunistas graves en ningún grupo durante el estudio de 96 semanas. En general, se informó de infecciones por herpesvirus en 28 pacientes tratados con IFN β -1a y 50 pacientes tratados con ocrelizumab. Todos los casos fueron leves o moderados con la excepción de un caso de herpes simple en un paciente tratado con ocrelizumab en el ESTUDIO I, clasificado como grave.

Reacciones relacionadas con infusión

El número de pacientes con al menos una reacción relacionada con infusión (IRR) fue mayor en pacientes tratados con ocrelizumab frente a IFN β -1a (un 30,9 % para ocrelizumab frente a un 7,3 % para IFN β -1a en el ESTUDIO I; un 37,6 % para ocrelizumab frente a un 12,0 % para IFN β -1a en el ESTUDIO II; un 34,3 % para ocrelizumab frente a un 9,7 % para IFN β -1 tanto en el ESTUDIO I como en el ESTUDIO II (agrupados)). Un paciente tratado con OCR tuvo una IRR grave en la primera infusión, con broncoespasmo potencialmente mortal; a pesar de la resolución del acontecimiento, el tratamiento posterior se retiró por protocolo. La retirada del tratamiento debido a las IRR durante la primera infusión se produjo en 11 pacientes (1,3 %) solo en el grupo de ocrelizumab. La incidencia de IRR con los pacientes tratados con ocrelizumab fue mayor con la primera infusión (27,5 %) y disminuyó notablemente con la dosificación posterior (13,7 % en la dosis 2). La mayoría de las reacciones relacionadas con la infusión fueron de grado 1 o 2 y se informaron en la primera infusión de la dosis uno (véanse

las FIGS. 23A y 23B, datos agrupados para el ESTUDIO I y ESTUDIO II). Los números en columnas representan la proporción de pacientes que experimentaron un grado de IRR. Calificación por criterios terminológicos comunes (CTCAE): **Grado 1** Leve; síntomas asintomáticos o leves; **Grado 2** Moderado; intervención mínima, local o no invasiva indicada; **Grado 3** Grave o médicamente significativa pero no potencialmente mortal de inmediato; **Grado 4** Consecuencias potencialmente mortales; intervención urgente indicada; **Grado 5** Muerte relacionada con AA. Nota: Todos recibieron 100 mg de metilprednisolona i.v. Durante 96 semanas, un 9,7 % de los pacientes con IFN β -1a (n= 80/826) y un 34,3 % de los pacientes tratados con ocrelizumab (n= 283/825) tuvieron al menos 1 IRR; la mayoría fueron de gravedad leve a moderada (99 % [n=79] y 93 % [n=262], respectivamente). La mayoría de los síntomas de IRR con el tratamiento con ocrelizumab incluyeron prurito, exantema, irritación de garganta y enrojecimiento. Las IRR se produjeron principalmente durante la infusión (IFN β -1a, 46,3 %; ocrelizumab, 80,6 %) y se trataron con ajustes de infusión y tratamiento sintomático (un 42,5 % de los pacientes que tuvieron IRR en el grupo de IFN β -1a y un 65,4 % en el grupo de ocrelizumab recibieron tratamiento).

Neoplasias malignas

En total, se informó de dos neoplasias malignas con IFN β -1a (un carcinoma de células del manto y un carcinoma de células escamosas), y se informó de cuatro neoplasias malignas en pacientes tratadas con ocrelizumab (dos casos de carcinoma ductal de mama invasivo, un carcinoma de células renales y un melanoma maligno).

Evaluaciones de laboratorio

En las evaluaciones analíticas, en la semana 2, los niveles medios de CD19 habían disminuido a insignificantes en pacientes tratados con ocrelizumab. No hubo impacto sobre células positivas para CD3, CD4, CD8, CD16 y CD56, lo que respalda que la inmunidad innata y los números de linfocitos T totales no se ven afectados por ocrelizumab. No hubo impacto de ocrelizumab sobre los valores de anticuerpo existentes para paperas, rubéola, varicela y neumococo.

Aunque solo se midió una comparación directa de ocrelizumab con IFN β -1a en el ESTUDIO I y ESTUDIO II, estos resultados de eficacia y seguridad sugieren que el perfil de beneficio/riesgo de ocrelizumab durante un período de 2 años es superior a todos los tratamientos modificadores de enfermedad (DMT) disponibles para el tratamiento de pacientes con EMR.

Efectos de ocrelizumab sobre marcadores de inmunidad humoral

Antes de la inclusión en el estudio, se aconsejó a los médicos que revisaran el estado de inmunización del paciente y siguieran las pautas locales para la vacunación; las inmunizaciones debían completarse ≥ 6 semanas antes del tratamiento. Se tomaron mediciones de valores de anticuerpos (Ab) contra paperas, rubéola, varicela y *Streptococcus pneumoniae* antes de iniciar el estudio y las semanas 12, 24, 48, 72 y 96. La proporción de pacientes con niveles de Ab que se podrían considerar protectores se evaluó para cada grupo de tratamiento con el tiempo.

Paperas: un 94,1 % de los pacientes tratados con IFN β -1a y un 93,6 % de los pacientes tratados con ocrelizumab tuvieron niveles positivos de Ab contra las paperas antes de iniciar el estudio. (Esta proporción varió un (mín-máx) 92,7-94,8 % (IFN β -1a) y un 91,8-93,5 % (ocrelizumab) en las seis mediciones tomadas durante el período de tratamiento del estudio de 96 semanas).

Rubéola: un 87,9 % de los pacientes tratados con IFN β -1a y un 89,0 % de los pacientes tratados con ocrelizumab tuvieron niveles positivos de Ab contra la rubéola y variaron un (mín-máx) 89,8 %-90,8 % (IFN β -1a) y un 88,7 %-89,4 % (ocrelizumab) durante las seis mediciones tomadas durante el período de tratamiento.

Varicela: un 95,5 % de ambos grupos de tratamiento tuvieron niveles positivos de Ab contra la varicela antes de iniciar el estudio y variaron (mín-máx) un 96,2-97,5 % (IFN β -1a) y un 94,8-95,6 % (ocrelizumab) durante las seis mediciones tomadas durante el período de tratamiento.

S. pneumoniae: entre los pacientes evaluables, el nivel medio (desviación estándar) de Ab de *S. pneumoniae* fue de 53,67 (54,13) mg/ml para pacientes tratados con IFN β -1a y de 55,35 (67,00) mg/ml para pacientes tratados con ocrelizumab antes de iniciar el estudio. La semana 96, el nivel medio (desviación estándar) de Ab de *S. pneumoniae* fue de 51,74 (42,50) mg/ml para pacientes tratados con IFN β -1a y de 54,06 (80,98) mg/ml para pacientes tratados con ocrelizumab. A las 96 semanas, el cambio medio desde el inicio fue de -1,13 (40,25) mg/ml para pacientes tratados con IFN β -1a y de -1,99 (59,60) mg/ml para pacientes tratados con ocrelizumab.

Efectos de ocrelizumab sobre las respuestas inmunitarias

Las infecciones pueden dar lugar a una exacerbación de la enfermedad de EM y pueden provocar complicaciones en el tratamiento con los tratamientos empleados actualmente. En consecuencia, las vacunaciones contra las infecciones son parte del tratamiento de los pacientes con EM. Este estudio evalúa si los pacientes tratados con ocrelizumab pueden montar respuestas inmunitarias protectoras contra vacunas clínicamente pertinentes. Este

estudio usa las siguientes vacunas para evaluar diferentes vías de respuesta inmunitaria:

- a) vacunación que contiene toxoide tetánico (TT) para evaluar la respuesta humoral anamnésica dependiente de linfocitos T;
- b) vacuna de polisacárido neumocócico 23-valente (23-PPV) para evaluar una respuesta humoral de linfocitos B puros o mayormente independiente de linfocitos T;
- c) hemocianina de lapa californiana (KLH) para explorar la respuesta inmunitaria dependiente de linfocitos B al neoantígeno;
- d) vacuna neumocócica conjugada 13-valente de refuerzo (13-PCV) para evaluar la eficacia clínica de la vacuna 23-PPV seguida de 13-PCV de refuerzo en comparación con la vacuna 23-PPV sola;
- e) vacuna contra la gripe para someter a prueba la capacidad para montar una respuesta humoral a una vacuna clínicamente pertinente.

En un estudio de fase III, abierto, para evaluar el efecto de ocrelizumab sobre las respuestas inmunitarias en pacientes con esclerosis múltiple recidivante, se aleatorizan aproximadamente 100 pacientes (2:1) para recibir 600 mg de ocrelizumab como dos infusiones intravenosas de 300 mg el día 1 y el día 15. Los pacientes del **grupo A** reciben ocrelizumab antes de la inmunización. Los pacientes del **grupo B** permanecen sin tratamiento previo/continúan con el tratamiento con interferón durante la inmunización.

Los pacientes del **grupo A** se inmunizan ≥ 85 días/ 12 semanas después de la primera administración de ocrelizumab. En resumen, el **grupo A** se inmuniza con vacuna adsorbida que contiene toxoide tetánico (TT) la semana 12, con vacuna de polisacárido neumocócico 23-valente (23-PPV) la semana 16 y con hemocianina de lapa californiana (KLH) las semanas 12, 16 y 20. Los pacientes del **grupo A** se subdividen para recibir:

- vacuna conjugada neumocócica de refuerzo 13 (13-PCV; **grupo A1**); o bien
- vacuna contra la gripe (**grupo A2**).

Los pacientes del **grupo B** se inmunizan con TT el día 1, con 23-PPV el día 28, con (KLH) los días 1, 28 y 56, y con la vacuna contra la gripe durante las semanas 1-12.

Los criterios de inclusión clave para este estudio son: Diagnóstico de EMR (criterios de McDonald revisados en 2010, Polman *et al. Ann Neurol* 2011;69:292-302); edad entre 18-55 años; recepción de ≥ 1 inmunización previa contra TT o tétanos y difteria (DT/Td), o tétanos, difteria y tosferina acelular (DTaP/Tdap); puntuación EDSS de 0,0-5,5. Los criterios de exclusión clave son: hipersensibilidad conocida a cualquier componente de la vacuna adsorbida que contiene TT, vacuna de polisacárido/conjugado neumocócico o vacuna contra la gripe; recepción de cualquier PPV < 5 años antes del cribado o una vacuna viva < 6 semanas antes de la aleatorización; exposición previa a KLH o inmunización con cualquier vacuna que contiene tétanos < 2 años antes del cribado.

Todos los grupos se someten a evaluaciones posteriores a la inmunización hasta el final del período de estudio (**grupo A**: Día 169/Semana 24; **Grupo B**: Día 84/Semana 12). Los criterios de elegibilidad clave incluyen al menos 1 inmunización previa contra TT, tétanos o difteria; o tétanos, difteria y tosferina acelular. La medida de resultado primaria compara la proporción de pacientes en los grupos A1 y A2 con una respuesta TT (IgG) positiva 8 semanas después de la inmunización con los pacientes en el grupo B. Una respuesta positiva a la inmunización de refuerzo se define como un valor de anticuerpo $\geq 0,2$ UI/ml (valores previos a la inmunización $< 0,1$ UI/ml) o un incremento de 4 veces en el valor de anticuerpo (valores previos a la inmunización $\geq 0,1$ UI/ml).

Las medidas de resultado secundarias clave se enumeran a continuación:

Respuesta TT

- La proporción de pacientes tratados con ocrelizumab (grupos A1 y A2) frente a la proporción de pacientes no tratados con ocrelizumab (grupo B) con una respuesta positiva (IgG) a la vacuna TT a las 4 semanas después de la inmunización;
- La proporción de pacientes tratados con ocrelizumab (grupos A1 y A2) frente a la proporción de pacientes no tratados con ocrelizumab (grupo B) con un incremento de 2 veces en los valores de anticuerpo contra el tétanos (valores previos a la inmunización $\geq 0,1$ UI/ml) o con valores de anticuerpo contra el tétanos $\geq 0,2$ UI/ml (valores previos a la inmunización $< 0,1$ UI/ml) a las 4 semanas después de la inmunización;
- Niveles medios de anticuerpo antitetánico en pacientes tratados con OCR (grupos A1 y A2) y no tratados con OCR (grupo B) medidos inmediatamente antes y 4 semanas después de una vacuna de refuerzo

23 PPV

- La proporción de pacientes tratados con ocrelizumab (grupos A1 y A2) frente a la proporción de pacientes no tratados con ocrelizumab (grupo B) con una respuesta positiva contra el serotipo de anticuerpo antineumocócico individual a las 4 semanas después del 23-VPP. Una respuesta positiva se define como el desarrollo de un incremento de 2 veces en el nivel o un aumento de $>1 \mu\text{g/ml}$ en el nivel en comparación con niveles previos a la inmunización.

KLH

- Niveles medios de anticuerpo anti-KLH (IgG) en pacientes tratados con ocrelizumab (grupos A1 y A2) frente a la proporción de pacientes no tratados con ocrelizumab (grupo B) medidos inmediatamente antes de la primera administración y 4 semanas después de la última administración de KLH.

Respuesta de refuerzo de conjugado neumocócico en los grupos A1 y B

- La proporción de pacientes tratados con ocrelizumab (grupo A1) en el grupo A1 frente a la proporción de pacientes no tratados con ocrelizumab (grupo B) con respuestas positivas frente a un serotipo de anticuerpo antineumocócico individual (23 serotipos) medida 4 semanas después de la vacuna de refuerzo de 13-PCV. Una respuesta positiva se define como el desarrollo de un incremento de 2 veces en el nivel o un aumento de $>1 \mu\text{g/ml}$ en el nivel en comparación con niveles previos a la inmunización.

Respuesta a la vacuna contra la gripe

- La proporción de pacientes tratados con ocrelizumab (grupo A2) que logran la seroprotección (valores de inhibición de hemaglutinación específica $>1:40$) a las 4 semanas después de la inmunización en comparación con pacientes no tratados con ocrelizumab (grupo B).

Medidas de resultado del inmunofenotipado

- Medidas de inmunidad humoral y celular que incluyen: (a) linfocitos B totales ($\text{CD}19^+$); (b) subconjuntos de linfocitos B (memoria; sin tratamiento previo; plasma); (c) linfocitos T totales ($\text{CD}3^+$); (d) linfocitos T auxiliares ($\text{CD}3^+\text{CD}4^+$); (e) linfocitos T citotóxicos ($\text{CD}3^+\text{CD}8^+$); y (f) linfocitos citolíticos naturales ($\text{CD}3^+\text{CD}16/56^+$).

Fase de extensión abierta

Después de completar las fases de tratamiento controladas, con doble enmascaramiento del ESTUDIO I y ESTUDIO II, los pacientes pueden ser elegibles para incluirse en las fases de extensión abierta (OLE) para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia a largo plazo de ocrelizumab. El diseño de los estudios de extensión del ESTUDIO I y ESTUDIO II abiertos, que evalúa la seguridad y eficacia a largo plazo de OCR en EM recidivante, se describe a continuación.

Los pacientes que se incluyen en la fase de OLE se incluyen en la fase de cribado de OLE, que dura hasta 4 semanas. Durante el cribado de OLE, los pacientes reciben IFN β -1A o IFN β -1A placebo hasta la primera infusión de la dosis 5. La fase de OLE dura hasta que el ocrelizumab esté disponible comercialmente en el país del paciente, según las regulaciones locales o hasta que el patrocinador decida finalizar el programa de EM de ocrelizumab. La fase de OLE no supera los 4 años (208 semanas). OLE no es obligatoria. Los pacientes que no desean pasar a la fase de OLE se incluyen en la fase de seguimiento de seguridad, que se realiza en intervalos de 12 semanas a partir de la fecha de la última visita del paciente. La supervisión continuada se produce si los linfocitos B no se reabastecen.

Los criterios de inclusión clave para la fase de OLE incluyen: finalización del período de tratamiento con enmascaramiento; consentimiento de los investigadores que determinan que el paciente se puede beneficiar del tratamiento de OCR en base a las evaluaciones realizadas durante el período de tratamiento; consentimiento informado por escrito del paciente para incluirse en la fase de OLE; y cumplimiento de los criterios de tratamiento/retratamiento de ocrelizumab, en los que el paciente está libre de las siguientes afecciones y anomalías analíticas: (a) acontecimiento relacionado con la infusión potencialmente mortal (CTCAE grado 4) que se produjo durante una infusión de OCR previa; (b) cualquier afección médica significativa o no controlada o anomalía analítica clínicamente significativa emergente del tratamiento; (c) infección activa; (d) recuento absoluto de neutrófilos $<1,5 \times 10^9/\mu\text{l}$; (e) recuento celular $\text{CD}4 <250/\mu\text{l}$; y (f) inmunoglobulina G de hipogammaglobulinemia $<3,3 \text{ g/l}$.

El programa de evaluaciones de seguridad y eficacia claves se muestra en la **tabla 6C** a continuación.

Tabla 6C

	Fase de OLE											Visita de dosificación retrasada	Visita no programada ^b	Visita de retirada del tratamiento
Ciclo	5			6		7		8		N				
Visita	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
Semana OLE	0	2 (±2)	12 (±7)	22 (±7)	24 (±5)	46 (±7)	48 (±5)	70 (±7)	72 (±5)	n-2 semanas (±7)	n (±7)			
Examen neurológico ^c	X		X		X		X		X		X		X	X
EDSS ^d	X		X		X		X		X		X		X	X
Potenciales recidivas ^e	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
EQ-5D ^f	X					X					(X)			
RMN ^g						X					(X)			
Análisis de seguridad rutinarios ^h	X		X	X		X		X		X			X	X
Tratamientos concomitantes ⁱ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Valores de anticuerpo ^j	X		X	X		X		X		X				X

^aSe realiza una visita de dosificación retrasada cuando la dosificación no se puede administrar en la visita de dosificación programada. En este momento, se pueden realizar otras pruebas/evaluaciones según sea apropiado.

5 ^bDurante una visita no programada (sin dosificación) se realizan evaluaciones de acuerdo con las necesidades clínicas del paciente. En este momento, se pueden realizar otras pruebas/evaluaciones según sea apropiado.

10 ^cSe realiza un examen neurológico en cada visita planificada y no programada. Todos los pacientes con nuevos síntomas neurológicos que sugieran un empeoramiento de EM o una recidiva se deben someter a EDSS realizada por el investigador examinador.

15 ^dLa puntuación EDSS se realiza en todos los pacientes por el investigador examinador cada 12 semanas. Se pueden realizar evaluaciones de EDSS adicionales entre visitas (es decir, durante una recidiva de EM, empeoramiento neurológico, etc.). La progresión de discapacidad se define como un incremento de $\geq 1,0$ punto (donde EDSS de referencia es $\leq 5,5$) o $\geq 0,5$ puntos (donde EDSS de referencia es $> 5,5$) con respecto a la puntuación EDSS de referencia que no es atribuible a otra etiología.

20 ^eSe evalúa a los pacientes para detectar recidivas por el investigador responsable en cada visita programada y, si es necesario, en visitas no programadas para confirmar las recidivas que se producen entre las visitas. Si se sospecha de una recidiva, la EDSS también se debe realizar además de completar el formulario de informe de caso electrónico de recidiva de EM.

^fLas evaluaciones EQ-5D (cuestionario EuroQol de cinco dimensiones) se realizan anualmente.

25 ^g Las RMN cerebrales anuales se realizan al comienzo de la fase de OLE (si no se tomó ninguna en las 12 semanas previas), dentro de (\pm) 4 semanas de las visitas programadas y en las visitas de retirada de OLE (si no se tomó ninguna en las 4 semanas previas).

^hLas evaluaciones analíticas de seguridad rutinarias incluyen hematología, química y análisis de orina.

ⁱLos medicamentos y procedimientos concomitantes se informan en cada visita programada y no programada.

^jSe realizan valores de anticuerpo contra antígenos comunes (paperas, rubéola, varicela y *Streptococcus pneumoniae*).

Sumario

El ESTUDIO I y ESTUDIO II mostraron que en pacientes con formas recidivantes de EM, ocrelizumab redujo significativamente la tasa de recidiva anualizada y el riesgo de progresión de discapacidad confirmada a las 12 y 24 semanas en comparación con IFN β -1a. Ocrelizumab es el primer tratamiento para esclerosis múltiple que reduce significativamente la progresión de discapacidad confirmada tanto a las 12 como a las 24 semanas en dos estudios de fase III separados y contra un comparador activo, lo que demuestra una coherencia del efecto. La proporción de pacientes que lograron una mejora de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas también se incrementó significativamente en pacientes que recibieron ocrelizumab en comparación con IFN β -1a. Estos hallazgos clínicos se respaldan por los criterios de valoración de RMN con lo que ocrelizumab redujo significativamente el número de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 y lesiones en T2 nuevas/en aumento en el cerebro en comparación con IFN β -1a. El efecto sobre las lesiones potenciadas con gadolinio en T1 y en T2 nuevas/en aumento es de tal magnitud que sugiere que la inflamación focal y la actividad de la enfermedad se detienen/suspenden en gran medida.

En los análisis exploradores, ocrelizumab redujo la pérdida de volumen cerebral (véanse las **FIGS. 21A-D**) en comparación con IFN β -1a. En otros análisis exploradores, ocrelizumab incrementó la proporción de pacientes sin pruebas de actividad de la enfermedad (NEDA) en la población ITT con una EDSS $\geq 2,0$ (véanse las **tablas 4 y 5**) en comparación con IFN β -1a. Ocrelizumab incrementó la proporción de pacientes sin pruebas de actividad de la enfermedad (NEDA) en todos los pacientes en la población ITT en comparación con IFN β -1a (véanse las **FIGS. 34A y 34B**). En las **FIGS. 34A y 34B**, la proporción de pacientes con NEDA se comparó usando la prueba de la χ^2 de Cochran-Mantel-Haenszel estratificada por región geográfica (Estados Unidos frente al resto del mundo) y la puntuación EDSS de referencia ($<4,0$ frente a $\geq 4,0$).

Estos resultados de eficacia, que demuestran un empeoramiento reducido de discapacidad y en algunos pacientes un funcionamiento incrementado, respaldan la hipótesis de que ocrelizumab tiene efectos sobre los marcadores de inflamación y daño neuronal. La eficacia demostrada por ocrelizumab en los resultados tanto inflamatorios como degenerativos sugiere que el tratamiento con ocrelizumab tiene potentes efectos antiinflamatorios y también puede tener efectos neuroprotectores.

Los beneficios con ocrelizumab en el ESTUDIO I y ESTUDIO II se observaron temprano y se mantuvieron durante el período de tratamiento de 96 semanas; en base a la experiencia anterior, no se espera el riesgo de rebote tras interrumpir el tratamiento (Kappos *et al.* (2012) "Long-term safety and efficacy of ocrelizumab in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: Week 144 results of a phase II, randomized, multicentre trial". *28th Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis*).

Los acontecimientos adversos observados en pacientes que recibieron ocrelizumab fueron consecuentes con los informados en el estudio de fase II de ocrelizumab (Kappos *et al.* (2011) *Lancet*. 378, 1779-87). No se informó de casos de infecciones oportunistas graves durante los estudios de 96 semanas. Los resultados hasta la fecha sugieren que ocrelizumab no tiene ningún impacto aparente sobre la vigilancia inmunitaria. En general, ocrelizumab tuvo un perfil de seguridad similar en comparación con IFN β -1a durante 96 semanas tanto en el ESTUDIO I como en el ESTUDIO II.

Como clase de fármacos, los tratamientos dirigidos a CD20⁺ tienen un bajo riesgo de leucoencefalopatía multifocal progresiva (<1 en 25.000) (Clifford *et al.* (2011) *Arch Neurol*. 68, 1156-64). No se ha informado de casos de leucoencefalopatía multifocal progresiva en los estudios del ESTUDIO hasta la fecha.

Como se esperaba, las reacciones relacionadas con la infusión se observaron más comúnmente con ocrelizumab. De acuerdo con el ensayo de fase II con la dosis de 600 mg de ocrelizumab, estas reacciones se observaron en gran medida con la primera dosis y disminuyeron con dosis posteriores (Hauser *et al.* (2008) *N Engl J Med*. 358, 676-88). Esto respalda el fundamento para dividir la primera dosis de 600 mg en dos infusiones separadas de 300 mg separadas aproximadamente dos semanas. Las reacciones relacionadas con la infusión fueron manejables con premedicación, ajustes de infusión y tratamiento sintomático.

Los datos clínicos y de RMN en conjunto sugieren que ocrelizumab es al menos tan eficaz como cualquier otro tratamiento sometido a prueba para la esclerosis múltiple, incluyendo aquellos que se consideran tratamientos de alta eficacia. Aunque solo se midió una comparación directa con IFN β -1a en el ESTUDIO I y ESTUDIO II, estos resultados de eficacia y seguridad sugieren que el perfil de beneficio/riesgo de ocrelizumab durante un período de

2 años es superior a todos los tratamientos modificadores de enfermedad disponibles para el tratamiento de pacientes con EMR. La alta eficacia no se asocia con un incremento en el riesgo de seguridad en comparación con IFN β -1a. Otros beneficios incluyen el inicio temprano del beneficio del tratamiento y no hay pruebas de rebote tras la interrupción de ocrelizumab.

Los datos obtenidos del ESTUDIO I y ESTUDIO II muestran que seleccionar linfocitos B CD20⁺ puede ser eficaz en el tratamiento de EM recidivante.

Análisis de subgrupos

Para evaluar el beneficio/riesgo relativo con diversos grados de actividad de enfermedad y la respuesta previa al tratamiento antes de la entrada en el estudio, se identificaron cuatro subgrupos adicionales:

Sin tratamiento previo activo; definido sin tratamiento previo que experimentó al menos 2 recaídas en los 2 años previos y al menos 1 recaída en el último año previo a la aleatorización.

Pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada activos; definidos como pacientes tratados previamente con IFN β -1a o acetato de glatirámico durante al menos 1 año, y que (a) experimentaron al menos una recaída en el año previo o bien (b) experimentaron al menos 1 lesión potenciada con gadolinio inicial

Pacientes sin tratamiento previo altamente activos; definidos como pacientes sin tratamiento previo que han experimentado al menos 2 recaídas en el último año antes de la aleatorización, y (a) al menos 1 lesión de gadolinio inicial o bien (b) incremento en el recuento de lesiones en T2 en la visita inicial (cambiando categóricamente de 0-5 a 6-9 lesiones o de 6-9 lesiones a > 9 lesiones), en comparación con una RMN previa.

Pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada altamente activos; definidos como pacientes tratados previamente con interferón o acetato de glatirámico durante al menos 1 año, que tuvieron al menos una recaída en el año previo y (a) tienen al menos nueve lesiones en T2 o bien (b) tienen al menos una lesión Gd antes de iniciar el estudio.

Se combinaron el ESTUDIO I y ESTUDIO II para incrementar la potencia para detectar diferencias entre los 4 subgrupos. Hubo al menos 100 pacientes en cada subgrupo para permitir la detección adecuada de las diferencias de tratamiento.

Se consultó la tasa de recaída anualizada por rama/grupo para determinar si las tendencias en los pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada se impulsaron por los resultados absolutos de ocrelizumab e IFN β -1a. En general, ocrelizumab mostró un efecto significativo en la reducción de la tasa de recaída anualizada en todos los subgrupos en comparación con IFN β -1a (véase la **FIG. 43**). Los pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada en la rama de interferón tuvieron una ARR mayor que el grupo ITT, mientras que los pacientes con ocrelizumab en el mismo grupo tuvieron una ARR menor que el grupo ITT. El grupo sin tratamiento previo activo tuvo una ARR mayor en ambos grupos de interferón y ocrelizumab.

En los 4 subgrupos, ocrelizumab tuvo un mayor efecto de tratamiento en comparación con IFN β -1a para ARR, CDP durante al menos 12 semanas, CDP durante al menos 24 semanas, CDI y RMN (véanse las **FIGS. 43-47** anteriores). Para ARR y RMN, la diferencia fue estadísticamente significativa en los 4 subgrupos. Para la CDP durante al menos 12 semanas, hubo efectos estadísticamente significativos en pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada tanto activos como altamente activos demostrando que ocrelizumab tiene efectos de tratamiento consecuentes en comparación con IFN β -1a. Para CDP durante al menos 24 semanas, estos grupos demostraron tendencias hacia la significación ($p=0,075$ y $p = 0,082$, respectivamente). Cuando se compara en medidas objetivas como las lesiones potenciadas con Gd en T1 (indicativas de efectos inflamatorios agudos, consecuentes con el mecanismo de acción para OCR), los efectos robustos y consecuentes de ocrelizumab en comparación con IFN β -1a son evidentes en todos los subgrupos

De forma similar, se realizó un análisis de los resultados de seguridad para los 4 subgrupos y se comparó con la población de seguridad global. Debido al tamaño comparativamente pequeño de los grupos, la comparación entre los grupos se ha limitado para no sacar conclusiones inapropiadas basadas en un pequeño número de acontecimientos. Los resultados de seguridad en los 4 subgrupos fueron similares entre sí y similares a la población global ("población de seguridad", definida como cualquier paciente con cualquier exposición a OCR), en general con una baja proporción de pacientes que experimentaron cualquier AA, AAG y AA que da lugar a retirada. De acuerdo con las observaciones en la población de seguridad, hubo más infecciones en el grupo de ocrelizumab en comparación con el grupo de interferón, mientras que la proporción de pacientes que experimentaron infecciones graves en la rama de ocrelizumab fue similar a o menor que la de interferón en todos los subgrupos.

Los resultados generales de eficacia y seguridad de ocrelizumab fueron comparables con la población ITT/seguridad en cada subgrupo. Por tanto, ocrelizumab ha demostrado un perfil de beneficio/riesgo favorable en todos los subgrupos. La coherencia de los datos entre los subgrupos respalda además los efectos observados en

la población total.

Ejemplo 2: un estudio de fase III de ocrelizumab en pacientes con esclerosis múltiple progresiva primaria

- 5 Se realizó un estudio aleatorizado, de grupos paralelos, con doble enmascaramiento, controlado con placebo para evaluar la eficacia y seguridad de ocrelizumab en comparación con placebo en pacientes con esclerosis múltiple progresiva primaria.

10 Los ensayos clínicos en formas progresivas de EM tienen típicamente una duración > 2 años debido a la heterogeneidad en las tasas de progresión de enfermedad, que a veces han sido históricamente menores de lo previsto, lo que da como resultado la incapacidad para mostrar un efecto del tratamiento. Este estudio tuvo un diseño en función de los acontecimientos, lo que quiere decir que si el número proyectado de acontecimientos de progresión de discapacidad confirmada no se alcanzó la semana 120 debido a la progresión de enfermedad lenta, el período de tratamiento se extendió hasta que se hayan producido suficientes acontecimientos de progresión para mantener la potencia estadística para detectar una diferencia de tratamiento. Como resultado, el período de tratamiento con enmascaramiento fue de un mínimo de 120 semanas desde el último paciente incluido; el período de tratamiento promedio fue de 3,5 años. La mayoría de los pacientes continúan en observación durante un período de 3 a 4 años en la fase de tratamiento con enmascaramiento.

Procedimientos

Criterios de elegibilidad y exclusión

25 Los criterios de elegibilidad clave incluyeron: una edad de 18 a 55 años; un diagnóstico de esclerosis múltiple progresiva primaria de acuerdo con los criterios de McDonald revisados en 2005 (Polman *et al.* (2011) "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the 'McDonald criteria'". *Ann Neurol* 58, 840-846); una puntuación de escala ampliada del estado de discapacidad (EDSS) de 3 a 6,5 puntos en el cribado; una puntuación de al menos 2,0 en el componente de funciones piramidales de la escala de sistemas funcionales (FSS) documentó antecedentes o presencia en el cribado de un índice de IgG elevado en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) y/o una o más bandas oligoclonales de IgG detectadas por enfoque isoeléctrico en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR); sin antecedentes de esclerosis múltiple recidivante-remitente (EMRR), esclerosis múltiple progresiva secundaria (EMPS) o esclerosis múltiple recidivante progresiva (EMRP); duración de la enfermedad desde la aparición de los síntomas de EM de (a) menos de 15 años en pacientes con EDSS en el cribado > 5,0 o (b) menos de 10 años en pacientes con EDSS en el cribado ≤ 5,0; y sin tratamiento con otros tratamientos modificadores de la enfermedad de esclerosis múltiple en el cribado.

40 Los criterios de exclusión clave incluyeron: antecedentes de esclerosis múltiple remitente recidivante, esclerosis múltiple progresiva secundaria o recidivante progresiva en el cribado; contraindicaciones para resonancia magnética nuclear (RMN); presencia conocida de otros trastornos neurológicos; infección activa conocida o antecedentes de o presencia de infección recidivante o crónica; antecedentes de cáncer, incluyendo tumores sólidos y neoplasias malignas hemáticas (excepto para células basales, carcinomas de células escamosas *in situ* de la piel y carcinoma *in situ* del cuello uterino que se han extirpado y resuelto); tratamiento previo con tratamientos dirigidos a linfocitos B (por ejemplo, rituximab, ocrelizumab, atacicept, belimumab, u ofatumumab); cualquier tratamiento previo con bloqueantes del transporte de linfocitos (por ejemplo, natalizumab, FTY720), cualquier tratamiento previo con alemtuzumab (CAMPATH®, LEMTRADA™), anti-CD4, cladribina, ciclofosfamida, mitoxantrona, azatioprina, micofenolato de mofetilo, ciclosporina, metotrexato, irradiación corporal total o trasplante de médula ósea; tratamiento con interferones β, acetato de glatirámico, i.v., inmunoglobulina, plasmáferesis u otros tratamientos inmunomoduladores dentro de las 12 semanas previas a la aleatorización; tratamiento con corticoesteroides sistémico dentro de las 4 semanas previas al cribado; y cualquier enfermedad concomitante que pueda requerir tratamiento crónico con corticoesteroides sistémicos o inmunodepresores durante la curso del estudio. El período de selección se puede extender (pero no puede exceder las 8 semanas) para pacientes que han usado corticoesteroides sistémicos para su EM antes del cribado. Para que un paciente sea elegible, no se deben haber administrado corticoesteroides sistémicos entre el cribado y el inicio del estudio.

Diseño del estudio

Los pacientes se aleatorizaron 2:1 para recibir ocrelizumab (300 mg por vía intravenosa, 2 infusiones separadas 14 días en cada ciclo de tratamiento (es decir, exposición) o bien placebo. Los pacientes se estratificaron por edad (≤ 45 frente a > 45) y región (Estados Unidos frente al resto del mundo).

El estudio consistió en los siguientes períodos (resumidos en la **FIG. 24**):

Cribado de hasta 4 semanas.

65 **Período de tratamiento con enmascaramiento:** Todos los pacientes se sometieron a al menos 120 semanas de tratamiento del estudio que representaban cinco ciclos de tratamiento, cada ciclo de 24 semanas de duración.

Como los pacientes se preseleccionaron durante un periodo de 12-18 meses, este periodo de tratamiento con enmascaramiento se extendió hasta 3,5-4 años para el primer grupo de pacientes incluidos en el estudio. Como se muestra en la **FIG. 24**, las dosis de ocrelizumab se administraron como infusiones intravenosas dobles de 300 mg x 2 separadas 14 días. Treinta minutos antes del inicio de cada infusión de ocrelizumab o placebo, los pacientes recibieron 100 mg de metilprednisolona por vía intravenosa. También se recomendó tratamiento previo a la infusión con un analgésico/antipirético oral (por ejemplo, acetaminofeno) y un antihistamínico oral (por ejemplo, difenhidramina). El periodo de tratamiento con enmascaramiento se diseñó para finalizar cuando se alcanzaran aproximadamente 253 acontecimientos, en base a los supuestos de tamaños de muestra originales. Si no se había alcanzado el número de acontecimientos en la semana 120, el estudio continuaría hasta que se hubiera alcanzado el número objetivo de acontecimientos.

Período de tratamiento abierto: Después del desenmascaramiento primario, los pacientes que se pueden beneficiar de otro tratamiento reciben ocrelizumab sin enmascaramiento. Los pacientes aleatorizados en el grupo de ocrelizumab continúan el tratamiento abierto con una infusión de ocrelizumab doble (infusiones i.v. de 300 mg administradas con 14 días de diferencia) cada 24 semanas. Los pacientes aleatorizados a placebo reciben una infusión de ocrelizumab doble para el primer ciclo de tratamiento abierto, es decir, dos infusiones i.v. administradas con 14 días de diferencia, comenzando con la siguiente visita programada regularmente después del bloqueo provisional de la base de datos y el análisis primario.

Procedimientos de estudio

El criterio de valoración de eficacia principal fue el tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante el periodo de tratamiento, definido como un incremento en EDSS que se mantuvo durante al menos 12 semanas, en base a las visitas programadas regularmente. La progresión de discapacidad confirmada (CDP) se refiere a un incremento mantenido de al menos 12 semanas de al menos 1,0 desde la EDSS de referencia si la puntuación de referencia no fue mayor que 5,5, o un incremento de al menos 0,5 si la puntuación de referencia fue mayor que 5,5.

Los criterios de valoración secundarios incluyeron: tiempo hasta la aparición de progresión de discapacidad confirmada durante el periodo de tratamiento, definido como un incremento en la EDSS que se mantuvo durante al menos 24 semanas (es decir, CDP de 24 semanas), en base a visitas programadas regularmente; cambio en la marcha cronometrada de 25 pies (T25-FW) desde el inicio hasta la semana 120; cambio en porcentaje en el volumen de lesión en T2 total por RMN desde el inicio hasta la semana 120; cambio en porcentaje en el volumen cerebral total por RMN desde la semana 24 hasta la semana 120; y cambio en la puntuación del componente físico del formulario breve 36 (SF-36) desde el inicio hasta la semana 120, y seguridad y tolerabilidad de ocrelizumab.

Los criterios de valoración exploradores incluyeron el tiempo hasta la aparición de la progresión de discapacidad compuesta confirmada de 12 semanas y 24 semanas (definida como la primera aparición confirmada de progresión de EDSS, o un incremento de al menos un 20 % en la marcha cronometrada de 25 pies y/o un incremento de al menos un 20 % en el tiempo de la prueba de clavijas en 9 agujeros (9-HPT)), el tiempo transcurrido hasta la progresión sostenida de al menos un 20% en la marcha cronometrada de 25 pies, el tiempo transcurrido hasta la progresión sostenida de al menos un 20% en la prueba de clavijas en 9 agujeros durante el periodo de tratamiento y el número total de lesiones en T2 nuevas o en aumento como se detecta por RMN cerebral desde el inicio hasta la semana 120. El 9-HPT es una prueba cuantitativa estandarizada de la función de las extremidades superiores y la destreza manual fina. Es el segundo componente de MSFC (compuesto funcional de esclerosis múltiple).

El análisis de sensibilidad adicional fue consecuente con los resultados primarios y se realizó para evaluar la influencia de las recidivas en el estudio en los datos de progresión de discapacidad confirmada excluyendo a pacientes que experimentaron recidivas clínicas informadas por el médico, incluyendo recidivas definidas por protocolo

(**Tabla 12A**). Se informó de recidivas definidas por protocolo para un 11 % de pacientes en el grupo de placebo y un 5 % en el grupo de ocrelizumab. Un análisis de subgrupos de los criterios de valoración clínicos y de eficacia de RMN claves en pacientes con y sin lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio fue consecuente con la población de estudio global (**tablas 12C-12E** a continuación).

Tabla 12A: análisis de sensibilidad del criterio de valoración principal y el primer criterio de valoración secundario que exploran las influencias de recidivas clínicas

	Excluyendo pacientes con recidivas clínicas	
Criterios de valoración	Placebo (n=204)	Ocrelizumab 600 mg (n=456)
Criterio de valoración principal		

Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %) Valor de <i>p</i>	0,74 (0,56-0,98) P=0,0324
Criterio de valoración secundario	
Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %) Valor de <i>p</i>	0,71 (0,53-0,95) P=0,0188

Análisis estadístico

La jerarquía estadística se proporciona en la **FIG. 25**.

5

Resultados

Pacientes

- 10 Como se muestra en la **tabla 12B**, los antecedentes y características de enfermedad de esclerosis múltiple de pacientes estaban bien equilibradas.

Tabla 12B. Características de enfermedad de referencia y datos demográficos de pacientes

	Placebo n=244	Ocrelizumab 600 mg N=488
Edad, año, media (DE)	44,4 (8,3)	44,7 (7,9)
Mediana (intervalo)	46,0 (18-56)	46,0 (20-56)
Mujer, n (%)	124 (50,8)	237 (48,6)
Tiempo desde la aparición de síntomas, año, media (DE)	6,1 (3,6)	6,7 (4,0)
Mediana (intervalo)	5,5 (0,9-23,8)	6,0 (1,1-32,9)
Tiempo desde el diagnóstico, año, media (DE)	2,8 (3,3)	2,9 (3,2)
Mediana (intervalo)	1,3 (0,1-23,8)	1,6 (0,1-16,8)
Sin tratamiento previo modificador de enfermedad de EM, n (%)	214 (87,7)	433 (88,7)
EDSS, media (DE)	4,7 (1,2)	4,7 (1,2)
Mediana (intervalo)	4,5 (2,5-6,5)	4,5 (2,5-7,0)
Hallazgos de RMN		
Pacientes con 0 lesiones Gd⁺ en T1, n (%)	183 (75,3)	351 (72,5)
Pacientes con lesiones Gd⁺ en T1, n (%)	60 (24,7 %)	133 (27,5)
1 lesión	29 (11,9)	62 (12,8)
2 lesiones	15 (6,2)	22 (4,5)
3 lesiones	5 (2,1)	17 (3,5)
≥ 4 lesiones	11 (4,5)	32 (6,6)
Número de lesiones Gd⁺ en T1, media (DE)	0,6 (1,6)	1,2 (5,1)
Número de lesiones en T2, media (DE)	48,15 (39,31)	48,71 (38,16)
Mediana (intervalo)	43 (0-208)	42,0 (0-249)
Volumen de lesión en T2, cm³, media (DE)	10,9 (13,0)	12,7 (15,1)
Mediana (intervalo)	6,17 (0-81,1)	7,31 (0-90,3)
Volumen cerebral normalizado, cm³, media (DE)	1469,9 (88,7)	1462,9 (83,9)
Mediana	1464,51	1462,23
(intervalo)	(1216,3-1701,7)	(1214,3-1711,1)

15

Como se muestra en la **FIG. 26**, las características de la población por intención de tratar estaban bien equilibradas. En el bloqueo de la base de datos para el análisis primario, 390 (80 %) pacientes tratados en el grupo de ocrelizumab frente a 159 (67 %) en el grupo de placebo permanecieron en tratamiento (la mediana de duración del estudio fue de 2,8 años con placebo y de 2,9 años con ocrelizumab). De los pacientes que se retiraron del estudio antes del bloqueo de la base de datos, 61 (64 %) en el grupo de ocrelizumab frente a 45 (56 %) en el grupo de placebo se incluyeron en el seguimiento de seguridad.

Discapacidad

El tiempo hasta la progresión de discapacidad confirmada que se mantuvo durante al menos 12 semanas en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo se proporciona en la **FIG. 27** (CRI - cociente de riesgos instantáneos). El tiempo hasta la progresión de discapacidad confirmada que se mantuvo durante al menos 24 semanas en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo se proporciona en la **FIG. 28**. Se consideró que los pacientes ITT con progresión de discapacidad inicial que interrumpieron el tratamiento temprano con evaluación de EDSS no confirmatoria tenían progresión de discapacidad confirmada, valor de *p* basado en la prueba de orden logarítmico estratificada por región geográfica y edad. Ocrelizumab redujo el riesgo de CDP mantenida durante ≥ 12 semanas en un 24 % frente a placebo y redujo el riesgo de CDP mantenida durante ≥ 24 semanas en un 25 % frente a placebo. Los análisis en las **FIGS. 27 y 28** se basaron en la población ITT; el valor de *p* se basó en la prueba de orden logarítmico estratificada por región geográfica y edad. Se consideró que los pacientes con progresión de discapacidad inicial que interrumpieron el tratamiento temprano con evaluación de EDSS no confirmatoria tenían progresión de discapacidad confirmada.

El riesgo de CDP de 12 semanas se redujo en un 35 % en pacientes que recibieron ocrelizumab con lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio (cociente de riesgos instantáneos, 0,65; IC 95 %, 0,40-1,06; *p*=0,0826) frente a un 16 % en pacientes que recibieron ocrelizumab sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio (cociente de riesgos instantáneos, 0,84; IC 95 %, 0,62-1,13; *p*=0,2441). Véase la **tabla 12C** a continuación.

Tabla 12C

	Total	Placebo (N=244)		Ocrelizumab 600 mg (N=488)		Cociente de riesgos instantáneos	IC 95 %	Valor de <i>p</i>
	n	n	Acontecimientos	n	Acontecimientos			
Población global	731	244	96	487	160	0,76	(0,59, 0,98)	731
Lesiones potenciadas con Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio	193	60	27	133	43	0,65	(0,40, 1,06)	0,0826
Sin lesiones potenciadas con Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio	533	183	68	350	115	0,84	(0,62, 1,13)	0,2441

El riesgo de CDP de 24 semanas se redujo en un 33 % en pacientes que recibieron ocrelizumab con lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio (cociente de riesgos instantáneos, 0,67; IC 95 %, 0,40-1,14; *p*=0,1417) frente a un 19 % en pacientes que recibieron ocrelizumab sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio (cociente de riesgos instantáneos, 0,81; IC 95 %, 0,59-1,10; *p*=0,1783). Véase la **tabla 12D** a continuación.

Tabla 12D

	Total	Placebo (N=244)		Ocrelizumab 600 mg (N=488)		Cociente de riesgos instantáneos	IC 95 %
	n	n	Acontecimientos	n	Acontecimientos		
Población global	731	244	87	487	144	0,75	(0,58, 0,98)
Lesiones potenciadas con Gd en T1 antes de iniciar el estudio	193	60	23	133	39	0,67	(0,40, 1,14)
Sin lesiones potenciadas con Gd en T1 antes de iniciar el estudio	533	183	63	350	103	0,81	(0,59, 1,10)

Los análisis de subgrupos adicionales de los criterios de valoración clínicos y de RMN claves en pacientes con o sin lesiones potenciadas con gadolinio en RMN antes de iniciar el estudio se resumen en la **tabla 12E** a continuación.

5

Tabla 12E

Criterios de valoración	Placebo (n=244)		Ocrelizumab 600 mg (n=488)			
	Lesiones Gd	Sin lesiones Gd	Lesiones Gd	Valor de <i>P</i>	Sin lesiones Gd	Valor de <i>P</i>
Criterio de valoración principal						
Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas Pacientes con acontecimiento - n Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %)	27/60	68/183	43/133 0,65 (0,40-1,06)	P=0,0826	115/350 0,84 (0,62-1,13)	P=0,2441
Criterios de valoración secundarios						
Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas Pacientes con acontecimiento - n Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %)	23/60	63/183	39/13 0,67 (0,40-1,14)	P=0,1417	103/350 0,81 (0,59-1,10)	P=0,1783
T25FW desde el inicio hasta la semana 120 N.º en el grupo Proporción de medias geométricas ajustadas (IC 95 %)	39	134	106 0,859 (0,655-1,112)	P=0,2464	288 0,922 (0,801-1,060)	P=0,2536
Volumen de lesión en T2 desde el inicio hasta la semana 120 N.º en el grupo Proporción de medias geométricas ajustadas (IC 95 %)	39	144	107 0,859 (0,818-0,901)	P<0,0001	291 0,913 (0,885-0,943)	P<0,0001
Volumen cerebral total de la semana 24-120 N.º en el grupo Diferencia en la media ajustada frente a placebo - % (IC 95 %)	31	119	83 18,1 (-21,1 a 57,2)	P=0,3625	241 20,6 (3,3 a 37,9)	P=0,0198
Criterios de valoración exploradores						
Progresión de discapacidad compuesta confirmada de 12 semanas* Pacientes con acontecimiento - n Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %)	43/60	127/183	78/133 0,77 (0,52-1,13)	P=0,1824	206/351 0,75 (0,60-0,94)	P=0,0109
Progresión confirmada de 12 semanas en T25FW en al menos un 20 % Pacientes con acontecimiento - n (%) Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo	38/60	106/183	65/133 0,67 (0,45-1,02)	P=0,0591	170/351 0,78 (0,61-0,99)	P=0,0431

(IC 95 %)						
Progresión confirmada de 12 semanas en 9HPT en al menos un 20 %						
Pacientes con acontecimiento - n (%) Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %)	22/60	43/183	24/133 0,42 (0,23-0,76)	P=0,0044	58/351 0,64 (0,43-0,95)	P=0,0254

La **FIG. 29** muestra la tasa de disminución en la velocidad de marcha (es decir, reducción en la tasa de progresión del tiempo de marcha) como se mide por la marcha cronometrada de 25 pies, en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo desde el inicio hasta la semana 120. Ocrelizumab redujo la tasa de disminución de la velocidad de marcha en un 29 % frente a placebo. El análisis se basó en la población ITT; el valor de p se basó en el ANCOVA clasificado en la visita de la semana 120 ajustado para la marcha cronometrada de 25 pies de referencia, región geográfica y edad con valores ausentes imputados por última observación llevada adelante (es decir, LOCF). Las estimaciones puntuales e IC del 95 % se basaron en datos transformados logarítmicamente. El análisis en la **FIG. 19** se basa en ITT (población por intención de tratar); el valor de p se basa en ANCOVA clasificado en la visita de la semana 120 ajustado para la marcha cronometrada de 25 pies de referencia, regiones geográficas y edad, con valores ausentes imputados por LOCF (última observación llevada adelante). Las estimaciones puntuales e IC (intervalo de confianza) del 95 % se basaron en el análisis de MMRM y los datos transformados logarítmicamente ajustados para la marcha cronometrada de 25 pies de referencia, región geográfica y edad. La reducción en el cambio en porcentaje del tiempo de marcha inicial hasta la semana 120 con ocrelizumab frente a placebo en pacientes con lesiones Gd⁺ antes de iniciar el estudio (véase la **FIG. 35A**) y sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio (véase la **FIG. 35B**) fue consecuente con la población de estudio global (véase la **FIG. 35C**). El análisis en las **FIGS. 35A-C** se basó en la población por intención de tratar; el valor de p se basó en el ANCOVA clasificado en la visita de la semana 120 ajustado para la marcha de 25 pies cronometrada de referencia, región geográfica y edad con valores ausentes imputados por LOCF (es decir, última observación llevada adelante). Estimaciones puntuales e intervalos de confianza del 95 % basados en el análisis de MMRM en datos transformados logarítmicamente ajustados para la marcha cronometrada de 25 pies de referencia, región geográfica y edad.

La **FIG. 30** muestra la tasa de disminución en la velocidad de marcha la semana 120 en relación con el inicio en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo. Ocrelizumab redujo la tasa de disminución de la velocidad de marcha en un 10 % frente a placebo (p=0,404).

La **FIG. 40A** muestra el cambio en la puntuación del sumario de componente físico SF-36 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes en la población de estudio global que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes en la población de estudio global que recibieron placebo. La **FIG. 40B** muestra el cambio en la puntuación del sumario de componente físico SF-36 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes con lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes con lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo. La **FIG. 40C** muestra el cambio en la puntuación del sumario de componente físico SF-36 desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes sin lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes sin lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio que recibieron placebo.

Criterios de valoración relacionados con RMN

La **FIG. 31** muestra el cambio en porcentaje de volumen cerebral total desde la semana 24 hasta la semana 96 en pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab en comparación con pacientes que recibieron placebo. Ocrelizumab redujo la tasa de pérdida de volumen cerebral total desde la semana 24 hasta la semana 96 en un 17,5 % en comparación con placebo (p=0,0206). El análisis se basó en la población ITT con evaluación la semana 24 y al menos una posterior a la semana 24; el valor de p se basó en MMRM en la visita de la semana 120 ajustado para el volumen cerebral de la semana 24, región geográfica y edad. La tasa de pérdida de volumen cerebral total desde la semana 24 hasta la semana 120 en pacientes tratados con OCR con lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio (véase la **FIG. 36A**) y sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio (véase la **FIG. 36B**) fue consecuente con los datos de población global (véase la **FIG. 36C**). Los análisis en las **FIGS. 36A-C** se basaron en la población por intención de tratar con evaluación la semana 24 y al menos una posterior a la semana 24; el valor de p se basó en MMRM en la visita de la semana 120 ajustado para el volumen cerebral de la semana 24, región geográfica y edad.

Los pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab mostraron una reducción sustancial en los volúmenes de lesión en T2 desde el inicio hasta la semana 120 en comparación con pacientes que recibieron placebo (p<0,0001). Como se muestra en la **FIG. 32**, el volumen de lesión en T2 se incrementó en un 7,4 % en pacientes en la rama de placebo, mientras que el volumen de lesión en T2 disminuyó en un 3,4 % en pacientes que recibieron

ocrelizumab. El análisis se basó en la población por intención de tratar; el valor de p se basó en el ANCOVA clasificado en la visita de la semana 120 ajustado para el volumen de lesión en T2 de referencia, región geográfica y edad con valores ausentes imputados por LOCF (última observación llevada adelante). Estimaciones puntuales e IC del 95 % (intervalos de confianza) basados en el análisis de MMRM en datos transformados logarítmicamente ajustados para el volumen de lesión en T2 de referencia, región geográfica y edad.

El tratamiento con ocrelizumab redujo el volumen total de lesiones hiperintensas en T2 cerebrales desde el inicio hasta la semana 120 en pacientes con y sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio, mientras que el volumen de lesión total se incrementó en pacientes con y sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio en el grupo placebo. Véase la **FIG. 37A**

En los pacientes que tenían lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio, el volumen de lesión en T2 total se redujo en un 3,8 % en pacientes tratados con ocrelizumab (IC 95 %, -7,0 a -0,5). Por el contrario, el volumen de lesión en T2 total se incrementó en un 12,0 % en pacientes que recibieron placebo (IC 95 %, 7,2-17,1; p<0,001). Véase la **FIG. 37B**. En pacientes sin lesiones Gd⁺ en T1 antes de iniciar el estudio, el volumen de lesión en T2 total se redujo en un 3,1 % en pacientes tratados con ocrelizumab (IC 95 %, -5,0 a -1,1). Por el contrario, el volumen de lesión en T2 total se incrementó en un 6,1 % en pacientes que recibieron placebo (IC 95 %, 3,3-9,0; p<0,001). Véase la **FIG. 37C**. Los análisis en las **FIGS. 37A-C** se basaron en la población ITT; el valor de p se basó en el ANCOVA clasificado en la visita de la semana 120 ajustado para el volumen de lesión en T2 de referencia, región geográfica y edad con valores ausentes imputados por LOCF (última observación llevada adelante). Estimaciones puntuales e IC del 95 % basados en el análisis de MMRM en datos transformados logarítmicamente ajustados para el volumen de lesión en T2 de referencia, región geográfica y edad.

Los pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab mostraron una reducción de un 97,6 % de las lesiones potenciadas con gadolinio en T1 en comparación con pacientes que recibieron placebo (p<0,0001). Los pacientes que recibieron 600 mg de ocrelizumab también mostraron una reducción de un 91,9 % de lesiones en T2 nuevas y/o en aumento en comparación con pacientes que recibieron placebo (p<0,0001). El número total de lesiones Gd⁺ en T1 y el número total de lesiones en T2 nuevas y/o en aumento se dividió entre la suma del número individual de lesiones las semanas 24, 48 y 120) para todos los pacientes en el grupo de tratamiento por el número total de RMN cerebrales. Ajustado por medias calculadas por regresión binomial negativa y ajustado por valor de referencia *lesión Gd⁺ en T1 (presente o no) o †recuento de lesiones en T2, edad de referencia (≤45 frente a >45 años) y región geográfica (EE. UU. frente al resto del mundo).

Eficacia

Los criterios de valoración de eficacia para este estudio se resumen en la **tabla 13A**. Los criterios de valoración clínicos y de RMN (población ITT) se resumen en la **tabla 13B**.

Tabla 13A: resumen de eficacia

Criterio de valoración	Reducción de riesgo	Valor de p
Tiempo hasta CDP 12 semanas	24 %	0,0321
Tiempo hasta CDP 24 semanas	25 %	0,0365
Cambio en la marcha cronometrada de 25 pies (desde el inicio hasta la semana 120)	29 %	0,0404
Cambio en porcentaje en el volumen de lesión en T2 total por RMN (desde el inicio hasta la semana 120)	placebo: incremento de un 7,4 % de ocrelizumab: disminución de un 3,4 %	<0,0001
Cambio en porcentaje en el volumen cerebral total de RMN (Semana 24 a semana 120)	17,5 %	0,0206
Cambio en SF-36 PCS (desde el inicio hasta la semana 120)		

Tabla 13B: criterios de valoración clínicos y de RMN (población ITT)

Criterios de valoración	Placebo (n=244)	Ocrelizumab 600 mg (n=488)
Criterios de valoración clínicos		
Criterio de valoración principal		

Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 12 semanas Pacientes con acontecimiento: n (%) Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %) Valor de p	96 (39,3)	160 (32,9) 0,76 (0,59-0,98) P=0,0321		
Criterios de valoración secundarios				
Progresión de discapacidad confirmada durante al menos 24 semanas Pacientes con acontecimiento - n (%) Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %) Valor de p	87 (35,7)	144 (29,6) 0,75 (0,58-0,98) P=0,0365		
T25FW desde el inicio hasta la semana 120 Cambio en porcentaje medio, reducción relativa frente a placebo - % (IC 95 %) Valor de p	55,10	39,93 29,337 (-1,618 a 51,456) P=0,0404		
Criterios de valoración exploradores	CDP 12 semanas	CDP 24 semanas	Confirmada 12 semanas	Confirmada 24 semanas
Progresión de discapacidad compuesta* Pacientes con acontecimiento - n (%) Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %) Valor de p	171 (70,1)	155 (63,5)	287 (58,8) 0,74 (0,61-0,89) P=0,0014	251 (51,4) 0,71 (0,58-0,87) P=0,0008
Progresión en T25FW en al menos un 20 % Pacientes con acontecimiento - n (%) Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %) Valor de p	145 (59,4)	127 (52,0)	238 (48,8) 0,75 (0,61-0,92) P=0,0053	202(41,4) 0,73 (0,59-0,91) P=0,0055
Progresión en 9HPT en al menos un 20 % Pacientes con acontecimiento - n (%) Cociente de riesgos instantáneos frente a placebo (IC 95 %) Valor de p	66 (27,0)	57 (23,4)	83 (17,0) 0,56 (0,41-0,78) P=0,0004	69(14,1) 0,55 (0,38-0,77) P=0,0006
Criterios de valoración de RMN				
Criterios de valoración secundarios				
Volumen de lesión en T2 desde el inicio hasta la semana 120 Cambio en porcentaje de la media geométrica ajustada (IC 95 %) Proporción de la media geométrica ajustada frente a placebo (IC 95 %) Valor de p	7,426 (4,967-9,942)	-3,366 (-4,987 a -1,718) 0,900 (0,876-0,924) P<0,0001		
Volumen cerebral total desde la	-1,093±0,072	-0,902±0,052		

semana 24-120 Cambio en porcentaje medio, reducción relativa frente a placebo - % (IC 95 %) Valor de <i>p</i>		17,475 (3,206-29,251) P=0,0206
Criterio de valoración explorador		
Lesiones en T2 nuevas y/o en aumento N.º medio de lesiones por RMN (IC 95 %) [‡] Cambio en porcentaje (IC 95 %) [‡] Valor de <i>p</i>	3,880(2,841-5,299)	0,313 (0,246-0,397) 0,081 (0,058-0,111) -91,9 (-88,9 a -94,2) P<0,0001
Resultados informados por paciente		
Criterio de valoración secundario		
Puntuación del sumario de componente físico SF-36 desde el inicio hasta la semana 120 Cambio medio ajustado (IC 95 %) Diferencia en las medias ajustadas (IC 95 %) Valor de <i>p</i>	-1,108 (-2,394 a 0,177)	-0,731 (-1,655 a 0,193) 0,377 (-1,048 a 1,802) P=0,6034

En el momento del análisis principal, en comparación con el placebo, ocrelizumab redujo significativamente el riesgo de progresión de discapacidad confirmada a las 12 semanas y a las 24 semanas en un 24 % (CRI = 0,76, IC 95 % [0,59, 0,98]; P=0,0321; **tabla 13B**; **FIG. 27**) y en un 25 % (0,75, IC 95 % [0,58, 0,98]; P=0,0365; **tabla 13B**; **FIG. 28**), respectivamente. La semana 120, ocrelizumab redujo la tasa de progresión de la marcha cronometrada de 25 pies en un 29 % (P=0,0404) en comparación con el placebo (**tabla 13B**). En comparación con el placebo, ocrelizumab también redujo significativamente el riesgo de progresión de discapacidad compuesta confirmada de 12 semanas y 24 semanas (es decir, progresión de EDSS, o al menos una progresión de un 20 % en la prueba de marcha cronometrada de 25 pies, y/o al menos una progresión de un 20 % en la prueba de clavijas en 9 agujeros) en un 26 % (CRI=0,74 [0,61-0,89], P=0,0014; **tabla 13B**; **FIG. 41**), y en un 29 % (CRI=0,71 [0,58-0,87], P=0,0008; **tabla 13B**; **FIG. 42**), respectivamente, al final del período de tratamiento con doble enmascaramiento. Con respecto a los componentes individuales de la evaluación de progresión de discapacidad compuesta, ocrelizumab disminuyó de manera consecuente y significativa el riesgo de progresión confirmada de un 20 % a las 12 semanas y a las 24 semanas en la marcha cronometrada de 25 pies (**tabla 13B**) y en la prueba de clavijas en 9 agujeros en comparación con el placebo (**tabla 13B**).

El análisis de sensibilidad adicional fue consecuente con los resultados primarios y se realizó para evaluar la influencia de las recidivas en el estudio en los datos de progresión de discapacidad confirmada excluyendo a pacientes que experimentaron recidivas clínicas informadas por el médico, incluyendo recidivas definidas por protocolo (**tabla S1**). Se informó de recidivas definidas por protocolo para un 11 % de pacientes en el grupo de placebo y un 5 % en el grupo de ocrelizumab. Un análisis de subgrupos de los criterios de valoración clínicos y de eficacia de RMN claves en pacientes con y sin lesiones potenciadas con gadolinio en T1 antes de iniciar el estudio fue consecuente con la población de estudio global (**tabla S2**). Sin embargo, el estudio ORATORIO no pudo demostrar diferencias de eficacia entre estos subgrupos.

Seguridad

Reacciones relacionadas con infusión

Se incluyeron 725 pacientes en el análisis de seguridad (es decir, 239 en el grupo de placebo y 486 en el grupo de ocrelizumab). A lo largo de una duración de tratamiento media de aproximadamente 3 años, la proporción de pacientes con al menos una reacción relacionada con la infusión (IRR) fue de un 25,5 % (n=61) para pacientes que recibieron placebo y de un 39,9 % (n=194) para pacientes tratados con ocrelizumab; la mayoría fueron de gravedad leve a moderada (93,4 % [n=57] y 96,9 % [n=188], respectivamente). Los síntomas de IRR más comunes incluyeron trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (45,9 % [n=89] para pacientes tratados con ocrelizumab y 13,1 % [n=8] para pacientes que recibieron placebo). No hubo IRR potencialmente mortales o mortales. La incidencia de IRR en pacientes tratados con ocrelizumab fue mayor con la primera infusión (27,4 %) y disminuyó notablemente con la dosificación posterior (11,6 % en la primera infusión de la dosis 2). En general, las IRR se produjeron principalmente durante la infusión en pacientes tratados con ocrelizumab (un 61,3 % en comparación con un 37,7 % en pacientes que recibieron el grupo de placebo). Un paciente (0,2 %) se retiró del tratamiento con

ocrelizumab debido a una IRR durante la primera infusión.

Acontecimientos adversos

- 5 Los acontecimientos adversos informados por ≥ 10 % de los pacientes en cada rama de tratamiento hasta la fecha de corte clínico se proporcionan en la tabla **14A**.

Tabla 14A.

n (%)	Placebo (n=239)	Ocrelizumab 600 mg (n=486)
Pacientes globales con ≥ 1 AA	215 (90,0)	462 (95,1)
Infecciones e infestaciones*	162 (67,8)	339 (69,8)
Nasofaringitis	65 (27,2)	110 (22,6)
Infección de las vías urinarias	54 (22,6)	96 (19,8)
Gripe	21 (8,8)	56 (11,5)
Infección de las vías respiratorias superiores	14 (5,9)	53 (10,9)
Bronquitis	12 (5,0)	30 (6,2)
Gastroenteritis	12 (5,0)	20 (4,1)
Lesiones, intoxicaciones y complicaciones quirúrgicas	104 (43,5)	263 (54,1)
Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo	98 (41,0)	181 (37,2)
Trastornos del sistema nervioso	79 (33,1)	174 (35,8)
Trastornos generales y afecciones en el sitio de administración	60 (25,1)	130 (26,7)
Trastornos gastrointestinales	60 (25,1)	126 (25,9)
Trastornos psiquiátricos	59 (24,7)	89 (18,3)
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	44 (18,4)	99 (20,4)
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos	35 (14,6)	87 (17,9)
Trastornos de metabolismo y nutrición	28 (11,7)	56 (11,5)
Trastornos renales y urinarios	30 (12,6)	51 (10,5)
Trastornos vasculares	26 (10,9)	54 (11,1)
Investigaciones	20 (8,4)	58 (11,9)

- 10 *Solo para infecciones e infestaciones SOC: se informó de acontecimientos por al menos un 5 % de pacientes en una rama de tratamiento.

- 15 El porcentaje de pacientes globales que experimentaron más de 1 acontecimiento adverso grave fue de un 22,2 % en el grupo de placebo en comparación con un 20,4 % en la rama de tratamiento. Véase la **tabla 14B**. Los acontecimientos adversos graves totales fueron bajos y similares en ambas ramas.

- 20 El acontecimiento adverso más común asociado con ocrelizumab fueron las reacciones relacionadas con la infusión (un 39,9 % frente a un 25,5 % para placebo). Un paciente (0,2 %) se retiró del tratamiento con ocrelizumab debido a una IRR en la primera infusión. Como se muestra en la **FIG. 33**, las reacciones relacionadas con infusión (IRR) disminuyeron en gravedad con cada tanda sucesiva y con cada dosis dentro de la misma tanda. Ocrelizumab tiene un perfil de seguridad similar a placebo.

Tabla 14B. Acontecimientos adversos graves totales

n (%)	Placebo n = 239	Ocrelizumab n = 486
Pacientes globales con ≥ 1 AAG	53 (22,2)	99 (20,4)
Infecciones e infestaciones	14 (5,9)	30 (6,2)
Lesiones, intoxicaciones y complicaciones quirúrgicas	11 (4,6)	19 (3,9)

Trastornos del sistema nervioso	9 (3,8)	18 (3,7)
Neoplasias: benigna, maligna y no especificada (incluyendo quistes y pólipos)	7 (2,9)	8 (1,6)
Trastornos gastrointestinales	3 (1-3)	10 (2,1)
Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo	6 (2,5)	6 (1,2)
Trastornos generales y afecciones en el sitio de administración	3 (1,3)	6 (1,2)
Trastornos renales y urinarios	3 (1,3)	5 (1,0)

Los datos obtenidos de este estudio muestran que los linfocitos B pueden desempeñar un papel en la fisiopatología de EMPP. Ocrelizumab es el primer tratamiento en fase de investigación clínica que muestra un efecto clínico consecuente y estadísticamente significativo en EMPP en un gran estudio de fase III en comparación con placebo. Ocrelizumab redujo significativamente la progresión de discapacidad clínica mantenida durante 12 semanas (criterio de valoración principal), la progresión de discapacidad clínica mantenida durante 24 semanas, el cambio en la marcha cronometrada de 25 pies, el cambio en el volumen de lesión en T2 y la pérdida de volumen cerebral. Los pacientes que recibieron ocrelizumab cumplieron consecuentemente con los criterios de valoración secundarios clave. A lo largo de la duración de tratamiento media de aproximadamente 3 años, ocrelizumab mostró un perfil de seguridad favorable. La incidencia global de acontecimientos adversos asociados con ocrelizumab fue similar a placebo. Los acontecimientos adversos más comunes fueron reacciones relacionadas con la infusión de leves a moderadas. La incidencia de acontecimientos adversos graves asociados con ocrelizumab, incluyendo infecciones graves, también fue similar a placebo.

Fase de extensión abierta

Después del estudio aleatorizado, de grupos paralelos, con doble enmascaramiento, controlado con placebo, los pacientes pueden ser elegibles para incluirse en las fases de extensión abierta (OLE) para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia a largo plazo de ocrelizumab. El diseño del estudio de extensión abierta, que evaluará la seguridad y eficacia a largo plazo de OCR en EM recidivante, se describe a continuación.

Después del bloqueo de la base de datos principal al finalizar el período de tratamiento con enmascaramiento, los pacientes que se pueden beneficiar de otro tratamiento reciben ocrelizumab sin enmascaramiento. Los pacientes aleatorizados en el grupo de ocrelizumab continúan el tratamiento abierto con una infusión de ocrelizumab doble (infusiones i.v. de 300 mg administradas con 14 días de diferencia) cada 24 semanas. Los pacientes aleatorizados a placebo reciben una infusión de ocrelizumab doble para el primer ciclo de tratamiento abierto, es decir, dos infusiones i.v. administradas con 14 días de diferencia, comenzando con la siguiente visita programada regularmente después del bloqueo provisional de la base de datos y el análisis primario.

La fase de OLE dura hasta que el ocrelizumab esté disponible comercialmente en el país del paciente, según las regulaciones locales o hasta que el patrocinador decida finalizar el programa de EM de ocrelizumab. La fase de OLE no supera los 4 años (208 semanas). OLE no es obligatoria. Los pacientes que no desean pasar a la fase de OLE se incluyen en la fase de seguimiento de seguridad, que se realiza en intervalos de 12 semanas a partir de la fecha de la última visita del paciente. La supervisión continuada se produce si los linfocitos B no se reabastecen.

Los criterios de inclusión clave para la fase de OLE incluyen: finalización del período de tratamiento con enmascaramiento; consentimiento de los investigadores que determinan que el paciente se puede beneficiar del tratamiento de OCR en base a las evaluaciones realizadas durante el período de tratamiento; consentimiento informado por escrito del paciente para incluirse en la fase de OLE; y cumplimiento de los criterios de tratamiento/retratamiento de ocrelizumab, en los que el paciente está libre de las siguientes afecciones y anomalías analíticas: (a) acontecimiento relacionado con la infusión potencialmente mortal (CTCAE grado 4) que se produjo durante una infusión de OCR previa; (b) cualquier afección médica significativa o no controlada o anomalía analítica clínicamente significativa emergente del tratamiento; (c) infección activa; (d) recuento absoluto de neutrófilos $<1,5 \times 10^3/\mu\text{l}$; (e) recuento celular CD4 $<250/\mu\text{l}$; y (f) inmunoglobulina G de hipogammaglobulinemia $<3,3 \text{ g/l}$.

El programa de evaluaciones de seguridad y eficacia claves se muestra en la **tabla 15** a continuación:

Tabla 15

Evaluación	Ciclos de fase de OLE ^a	Visita de dosificación	Visita no programada ^c	Visita de retirada del tratamiento
------------	------------------------------------	------------------------	-----------------------------------	------------------------------------

	Día 1 ciclo OLE (±5 días)	Día 15 ciclo OLE (±5 días)	12 semanas después del día 1 de visita de infusión Día 1 ciclo OLE (±7 días)	retrasada ^b		
Examen neurológico ^d	x	x	x		x	x
EDSS ^e	x		x		x	x
Potenciales recidivas ^f	x	x	x	x	x	x
EQ-5D ^g	x					x
RMN ^h	x					x
Análisis de seguridad rutinarios ⁱ	x		x		x	x
Tratamientos concomitantes ^j	x	x	x	x	x	x
Valores de anticuerpo ^k						x

^aLos pacientes continúan con ciclos de tratamiento de 24 semanas con enmascaramiento hasta que el último paciente recibe su última tanda de tratamiento programada la semana 98. En ese momento, todos los pacientes continúan hasta el final de su ciclo actual (24 semanas). Si no se ha alcanzado el número total proyectado de acontecimientos de progresión de discapacidad confirmada la semana 120, entonces todos los pacientes continúan con ciclos de tratamiento de 24 semanas con enmascaramiento adicionales hasta que se haya alcanzado el número proyectado de acontecimientos de discapacidad confirmada.

^bSe realiza una visita de dosificación retrasada cuando no se puede administrar la dosificación en la visita de dosificación programada. En este momento, se pueden realizar otras pruebas/evaluaciones según sea apropiado.

^cDurante una visita no programada (sin dosificación) se realizan evaluaciones de acuerdo con las necesidades clínicas del paciente. En este momento, se pueden realizar otras pruebas/evaluaciones según sea apropiado.

^dSe realiza un examen neurológico en cada visita planificada y no programada. Todos los pacientes con nuevos síntomas neurológicos que sugieran un empeoramiento de EM o una recidiva se deben someter a EDSS realizada por el investigador examinador.

^eLa puntuación de la escala ampliada del estado de discapacidad se realiza en todos los pacientes por el investigador examinador cada 12 semanas. Se pueden realizar evaluaciones de EDSS adicionales entre visitas (es decir, durante una recidiva de EM, empeoramiento neurológico, etc.). La progresión de discapacidad se define como un incremento de $\geq 1,0$ punto (donde EDSS de referencia es $\leq 5,5$) o $\geq 0,5$ puntos (donde EDSS de referencia es $> 5,5$) con respecto a la puntuación EDSS de referencia que no es atribuible a otra etiología.

^fSe evalúa a los pacientes para detectar recidivas por el investigador responsable en cada visita programada y, si es necesario, en visitas no programadas para confirmar las recidivas que se producen entre las visitas. Si se sospecha de una recidiva, la EDSS también se debe realizar además de completar el formulario de informe de caso electrónico de recidiva de EM.

^gLas evaluaciones EQ-5D (cuestionario EuroQol de cinco dimensiones) se realizarán anualmente.

^hLas RMN cerebrales anuales se realizan al comienzo de la fase de OLE (si no se tomó ninguna en las 12 semanas previas), dentro de (\pm) 4 semanas de las visitas programadas y en las visitas de retirada de OLE (si no se tomó ninguna en las 4 semanas previas).

ⁱLas evaluaciones analíticas de seguridad rutinarias incluyen hematología, química y análisis de orina.

^jLos medicamentos y procedimientos concomitantes se informan en cada visita programada y no programada.

^kSe realizan valores de anticuerpo contra antígenos comunes (paperas, rubéola, varicela y *Streptococcus pneumoniae*).

Los ejemplos, que se pretende que sean puramente ejemplares de la invención y, por lo tanto, no se deben considerar que limitan la invención de ningún modo, también describen y detallan aspectos y modos de realización de la invención analizada anteriormente. Los anteriores ejemplos y la descripción detallada se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-CD20 para su uso en un procedimiento de mejora de la capacidad funcional en un paciente humano que tiene esclerosis múltiple que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz del anticuerpo anti-CD20, en el que el paciente tiene una mejora en la capacidad funcional después del tratamiento; en el que el anticuerpo anti-CD20 es ocrelizumab; en el que la esclerosis múltiple es una esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP) con lesiones con tinción de gadolinio en T1; y en el que la mejora de la capacidad funcional se mide por la prueba de marcha cronometrada de 25 pies (T-25FW) o puntuación EDSS.
2. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la mejora en la capacidad funcional se mide por la prueba de marcha cronometrada de 25 pies (T-25FW) y la puntuación EDSS.
3. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una exposición a anticuerpo anti-CD20 inicial seguido de una segunda exposición a anticuerpo anti-CD20, en el que las exposiciones inicial y segunda son cada una de 600 mg del anticuerpo, y en el que el intervalo entre la exposición inicial y la segunda exposición es de 20-24 semanas o 5-6 meses.
4. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una tercera exposición a anticuerpo anti-CD20, en el que la tercera exposición es de 600 mg del anticuerpo, y en el que el intervalo entre la segunda exposición y la tercera exposición es de 20-24 semanas o 5-6 meses.
5. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el anticuerpo anti-CD20 se administra al paciente para proporcionar una cuarta exposición a anticuerpo anti-CD20, en el que la cuarta exposición es de 600 mg del anticuerpo, y en el que el intervalo entre la tercera exposición y la cuarta exposición es de 20-24 semanas o 5-6 meses.
6. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en el que la exposición inicial, que es de 600 mg del anticuerpo anti-CD20, comprende una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan dos semanas o 14 días.
7. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones comprenden una dosis única de 600 mg.
8. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en el que la exposición inicial y la segunda, tercera y/o cuarta exposiciones adicionales comprenden una primera dosis y una segunda dosis del anticuerpo anti-CD20, en la que cada dosis es de 300 mg y la primera dosis y la segunda dosis se separan dos semanas o 14 días.
9. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que se administra un segundo medicamento con la exposición inicial o exposiciones posteriores, en el que el anticuerpo anti-CD20 es un primer medicamento.
10. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el anticuerpo anti-CD20 está en una composición farmacéuticamente aceptable.
11. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el anticuerpo anti-CD20 se administra por vía intravenosa.
12. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en el que el anticuerpo anti-CD20 se administra por vía intravenosa para cada exposición a anticuerpo.
13. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el anticuerpo se administra por vía subcutánea.
14. El anticuerpo anti-CD20 para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el anticuerpo anti-CD20 se administra por vía subcutánea para cada exposición a anticuerpo.

FIG. 1A

Alineación de secuencia del dominio de la cadena ligera variable

	FR1	CDR1	
	10 20 30 40		
2H7	QIVLSQPAILSASPGKVTMTTC [RASSVS-YNH]	WYQCKP	
	* * * * *		
hu2H7, v16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC [RASSVS-YNH]	WYQCKP	
		* * * * *	
hum KI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTC [RASSVS-YNH]	WYQCKP	
	FR2 CDR2 FR3		
	50 60 70 80		
2H7	GSSPKPWY [APSNLAS] GVPARFSGSGTSTISRVEA		
	* * * * *		
hu2H7, v16	GKAPKPLIY [APSNLAS] GVPARFSGSGTSTISRVEA		
	* * * * *		
hum KI	GKAPKPLIY [AASSLES] GVPARFSGSGTSTISRVEA		
	FR3 CDR3 FR4		
	90 100		
2H7	EDAATYYC [QQWSPNPPT] FGAGTKLEIKR		
	* * * * *		
hu2H7, v16	EDFATYYC [QQWSPNPPT] FGAGTKLEIKR		
	* * * * *		
hum KI	EDFATYYC [QQWSPNPPT] FGAGTKLEIKR		

Alineación de secuencia del dominio de la cadena pesada variable

FIG. 1B

	FR1	CDR1	
	10	20	30 40
2H7	QAYLQOSGAELVRPGASVKMSCKAS [GYTFSTYNNMH] WVKOT		
	*** ** *	*** *	**
hu2H7. v16	EVOLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS [GYTFSTYNNMH] WVRQA		
		** *	*
hum 111	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS [GFTFSSYAMS] WVRQA		
	FR2	CDR2	FR3
	50	60	70 80
2H7	PROGLEWIG [ANYPONGDTSYNOKFKG] KATLTVDKSSSTAYM		
	** *	** ** *	** *
hu2H7. v16	PGKGLEWVG [ANYPONGDTSYNOKFKG] RFTISVDKSKNTLYL		
	* * * * *	* * * * *	*
hum 111	PGKGLEWA [VISGGGGSTYYADSVKG] RFTISRDNKNTLT		
	CDR3		FR4
	abc 90 100abode 110		
2H7	QLSSLTSEDSAVYFCAR [VWYNSNSYWYFDV] WGIGTLTVSS		
	** *	*	*
hu2H7. v16	QMNSLRAEDTAVYFCAR [VWYNSNSYWYFDV] WGIGTLTVSS		
		***** *	
hum 111	QMNSLRAEDTAVYFCAR [GRVGYSY----DY] WGIGTLTVSS		

Cadena ligera de 2H7.v16 humanizada

DIOMTQSPSSLSASVGDRTITCRASSSVSYMHWYOOKPGKAPKPLIYAPSNLASGVPSRFSG
SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQWSFNPTTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHK
VYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:13)

FIG. 2

Cadena pesada de 2H7.v16 humanizada

EVQLVESGGGLVOPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIFYPGNGDTSYNQK
FKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYSNSYWFQVWGQGTLLTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK
KDTLMISRTPEVTCVVYDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHIALHNIY
TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:14)

FIG. 3

Cadena pesada de 2H7.v31 humanizada

EVQLVESGGGLVOPGGSLRLSCAASGYTFTSYNMHWVRQAPGKGLEWVGAIFYPGNGDTSYNQK
FKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVYYYSNSYWFQVWGQGTLLTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTQSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK
KDTLMISRTPEVTCVVYDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNATYRVVSVLTVLH
QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIAATISKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHIALHNIY
TQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:15)

FIG. 4

FIG. 5

Alineación de la cadena ligera

	1	32	
hu2h7.v16	***	DIONTQSPSSLASVGDRVTTCRASSSVSYMHWYQKPGKAPKPLIYAP	
hu2h7.v511	***	DIONTQSPSSLASVGDRVTTCRASSSVSYLHWYQKPGKAPKPLIYAP	
	52		
hu2h7.v16	***	SNLASGVPSRFGSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYYCOQWSFNPTFGQG	
hu2h7.v511	***	SNLASGVPSRFGSGSGTDFLTITSSLOPEDFATYYCOQWAFNPTFGQG	
	102		
hu2h7.v16	***	TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVLNNFYPREAKVQWKVD	
hu2h7.v511	***	TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVLNNFYPREAKVQWKVD	
	152		
hu2h7.v16	***	NALOSGNQESVTEQDSKDYSLSTLTKADYEKHKVYACEVTHOGL	
hu2h7.v511	***	NALOSGNQESVTEQDSKDYSLSTLTKADYEKHKVYACEVTHOGL	
	202	214	
hu2h7.v16	***	SSPVTKSFNRGEC	
hu2h7.v511	***	SSPVTKSFNRGEC	

Alineación de la cadena pesada

```

      1
hu2H7.v16  EVQLVESGGGLVOPGGSRLSCAASGYTFTSYMMHW
      *****
hu2H7.v511  EVQLVESGGGLVOPGGSRLSCAASGYTFTSYMMHW

      37          52a          82abc
hu2H7.v16  YROAPQKGLEWVGAIYPGNGDTSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSL
      *****
hu2H7.v511  YROAPQKGLEWVGAIYPGNGATSYNQKFKGRFTISVDKSKNTLYLQMNSL

      83          100abcde          113
hu2H7.v16  RAEDTAVYYCARVYYSYWYFDVWGQGTLLTVSS
      *****
hu2H7.v511  RAEDTAVYYCARVYYSYWYFDVWGQGTLLTVSS

      118
hu2H7.v16  ASTKGPSVFPLAPS
      *****
hu2H7.v511  ASTKGPSVFPLAPS

      132
hu2H7.v16  SKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
      *****
hu2H7.v511  SKSTSGGTAAIGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS

      182
hu2H7.v16  LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA
      *****
hu2H7.v511  LSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA

      232
hu2H7.v16  PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYVDVSHEDPEVKFNWYVDG
      *****
hu2H7.v511  PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYVDVSHEDPEVKFNWYVDG

      282
hu2H7.v16  VEVHNAKTKPREEGYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
      *****
hu2H7.v511  VEVHNAKTKPREEGYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNAAALPAP

      332
hu2H7.v16  IEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
      *****
hu2H7.v511  IAATSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNOVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

      382
hu2H7.v16  ESGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEA
      *****
hu2H7.v511  ESGOPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEA

      432          447
hu2H7.v16  LHHHYTQKSLSLSPGK
      *****
hu2H7.v511  LHHHYTQKSLSLSPGK

```

FIG. 6

FIG. 7

Período de tratamiento con doble enmascaramiento
con doble simulación

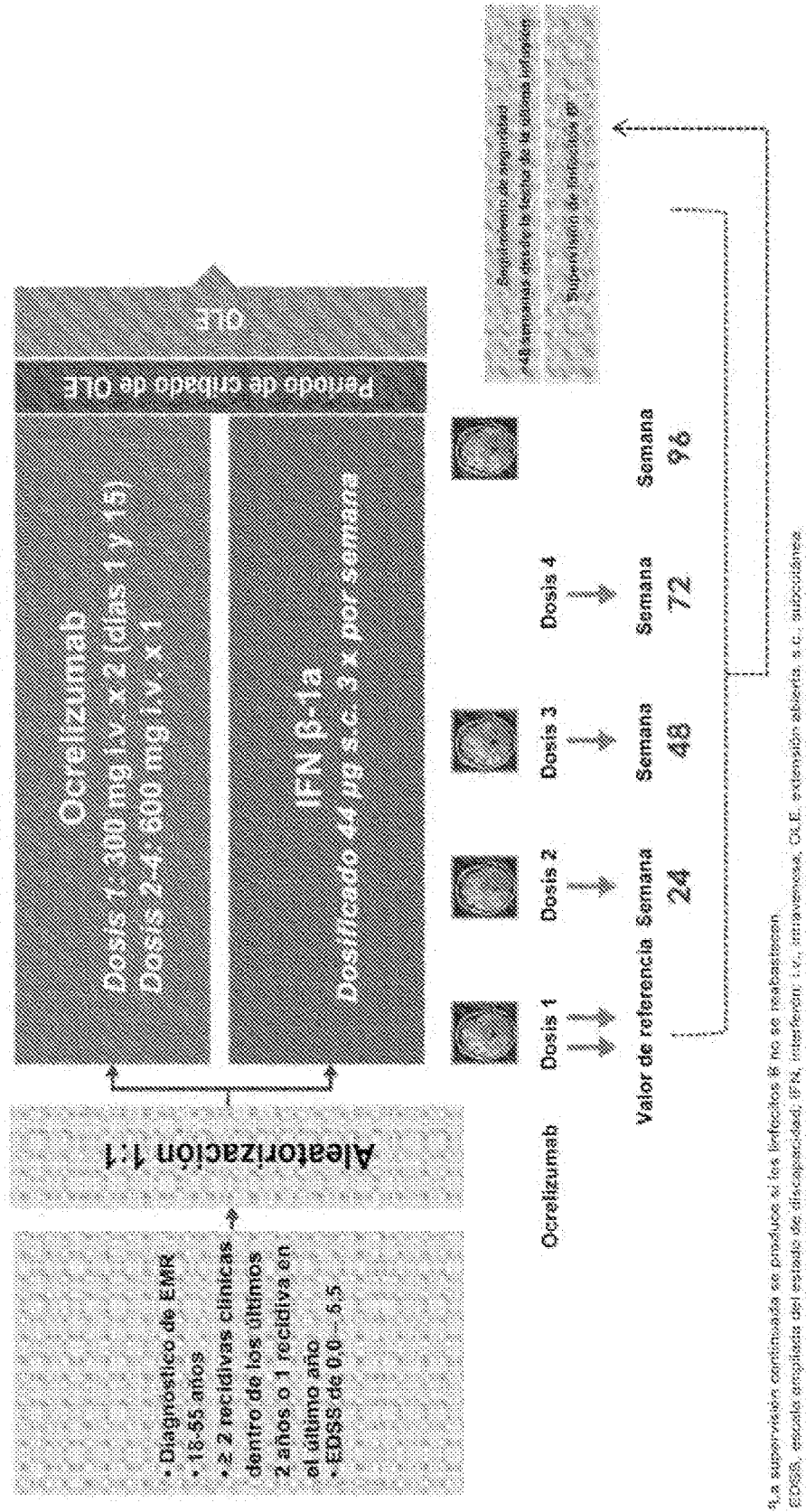


FIG. 8

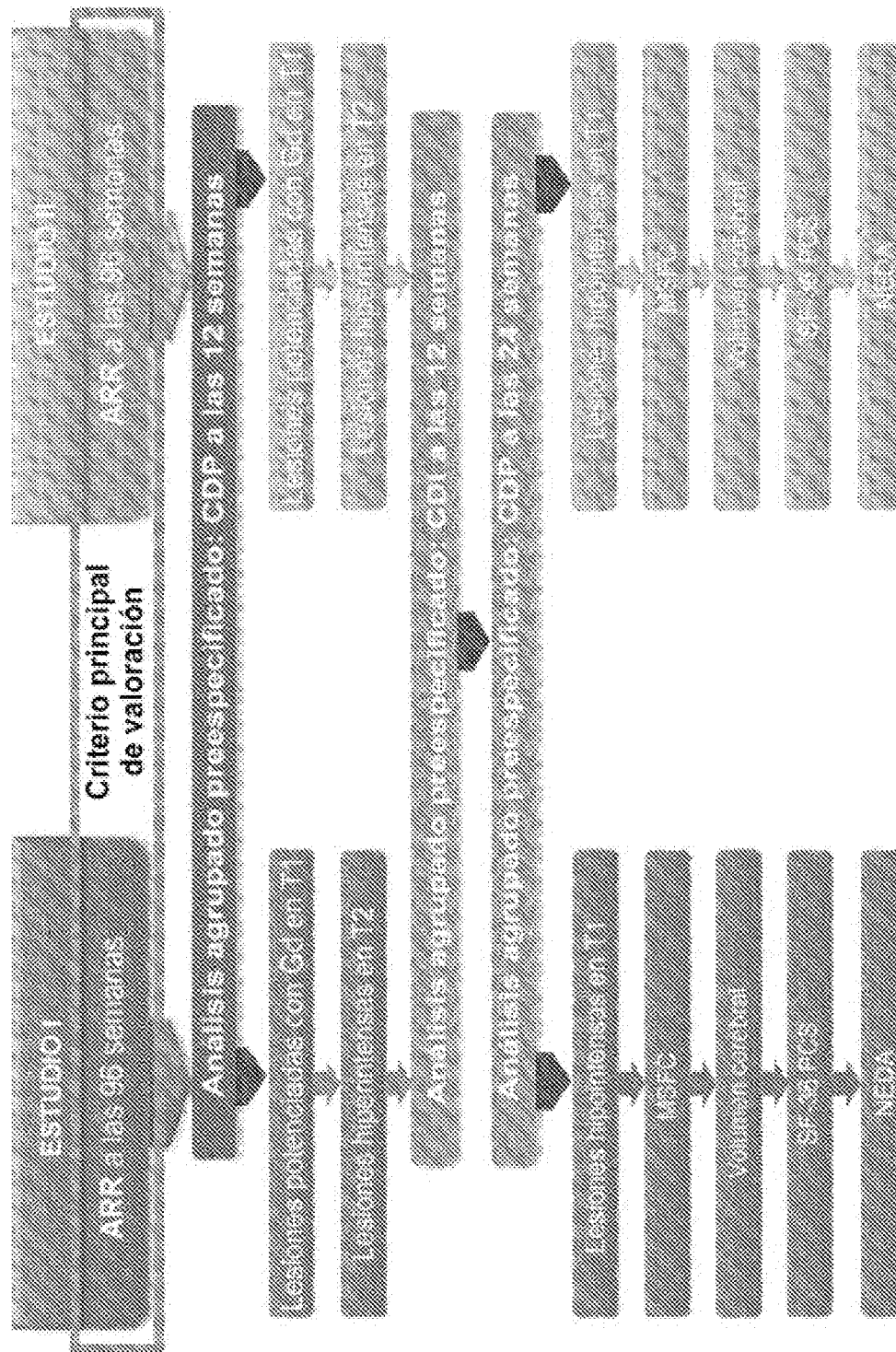


FIG. 9

	ESTUDIO I	
	IFN β -1a 44 μ g	Ocrelizumab 600 mg
ITT, n	411	410
Tratado, n	409	408
Retirada, n (%)	69 (17)	42 (10)
Retirada debido a AA, n (%)	25 (6,1)	13 (3,2)
Incluidos en seguimiento de seguridad, n (%)	42 (61)	24 (57)
Completado, n (%)	340 (83)	366 (89)
Incluidos en seguimiento de seguridad, n (%)	12 (4)	10 (3)
Incluidos en extensión abierta, n (%)	326 (96)	352 (96)
	418	417
	417	417
	97 (23)	57 (14)
	25 (6,0)	16 (3,8)
	39 (40)	16 (28)
	320 (77)	360 (86)
	17 (5)	9 (2)
	297 (93)	350 (97)

FIG. 10

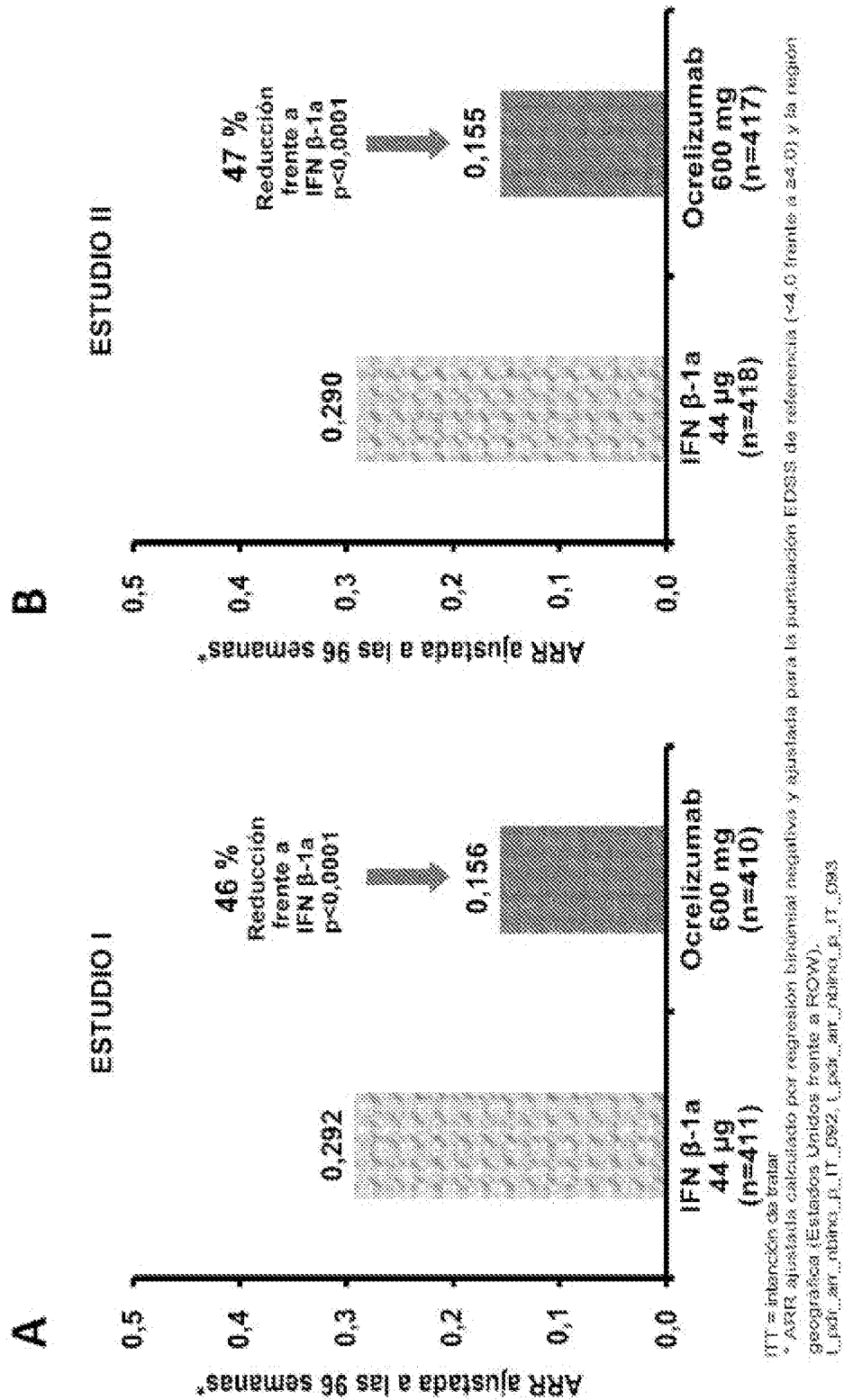


FIG. 11

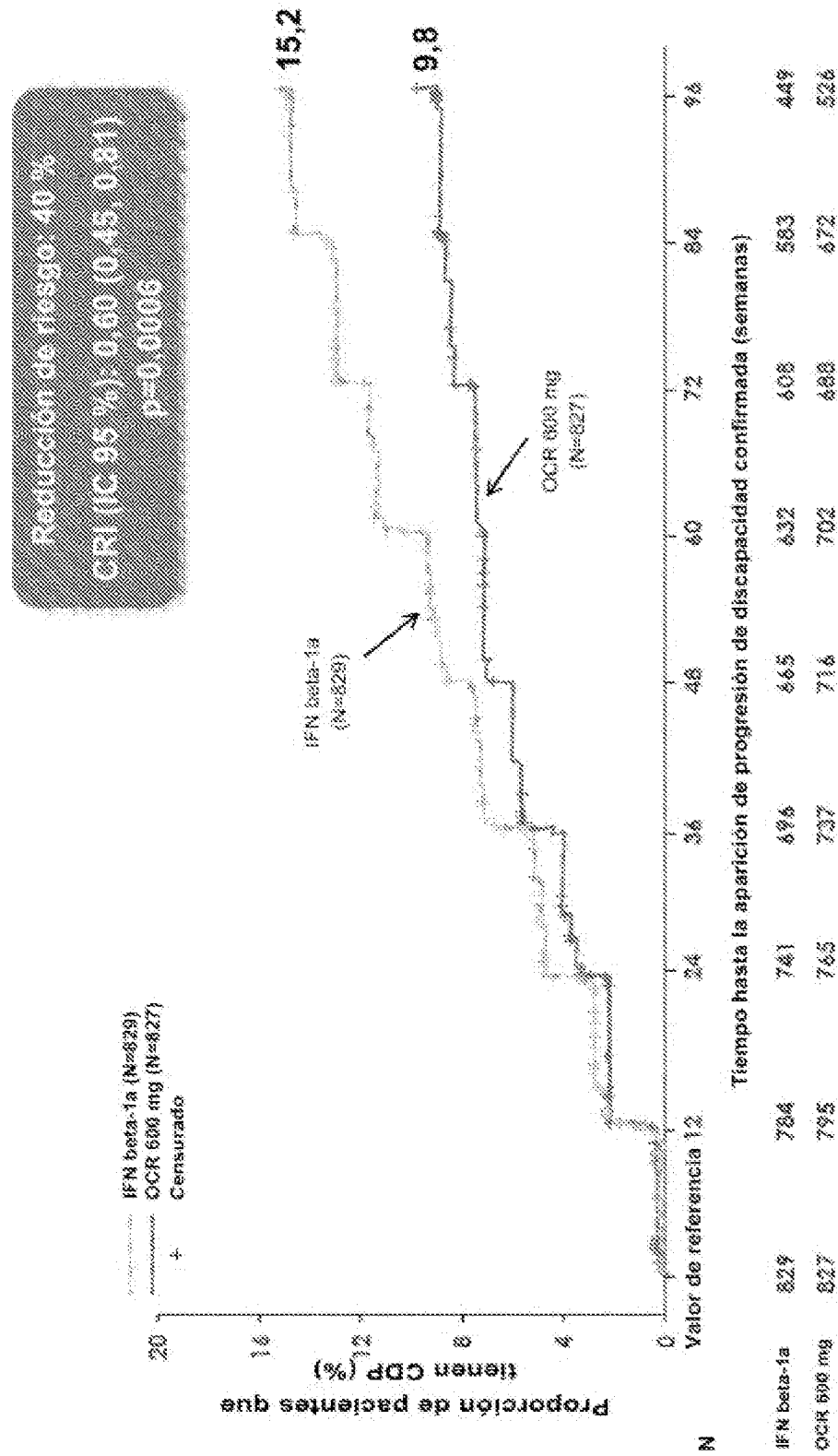


FIG. 12

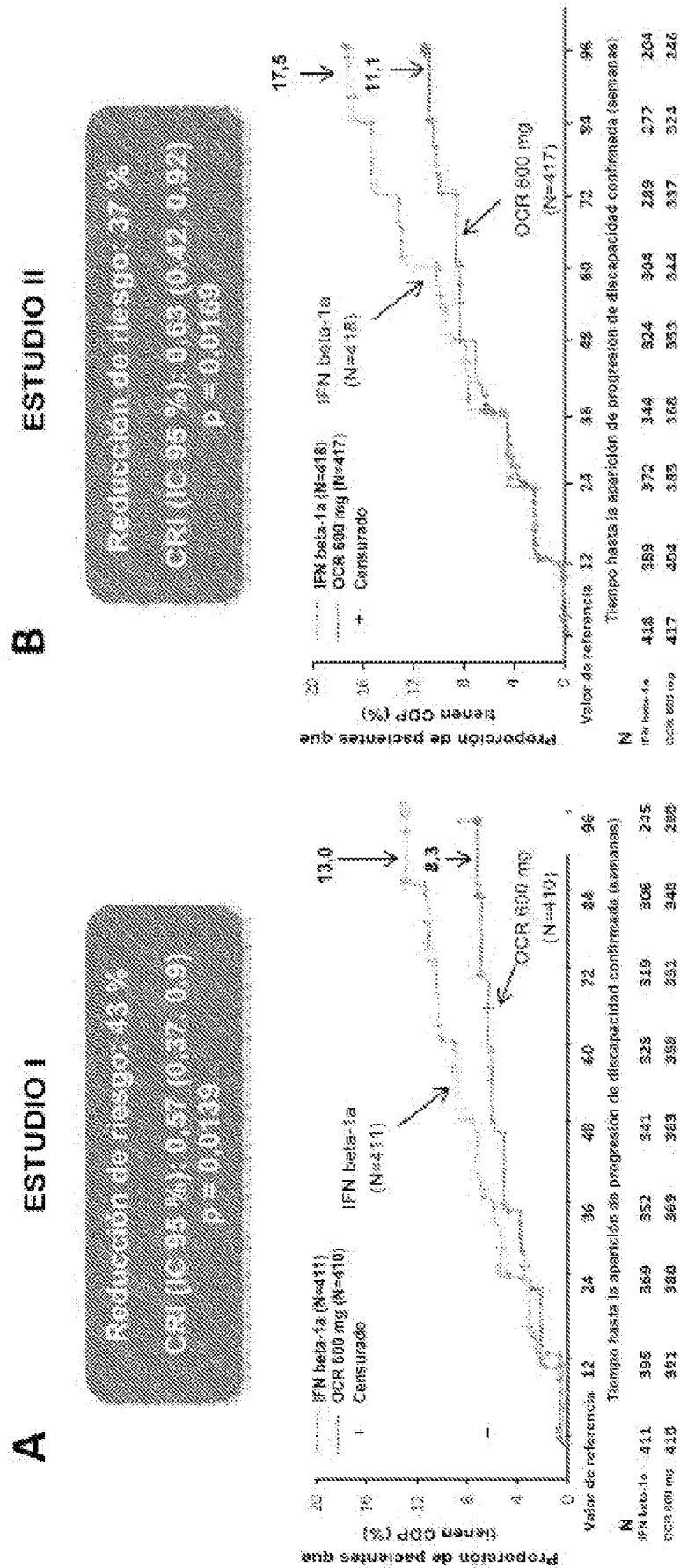


FIG. 13

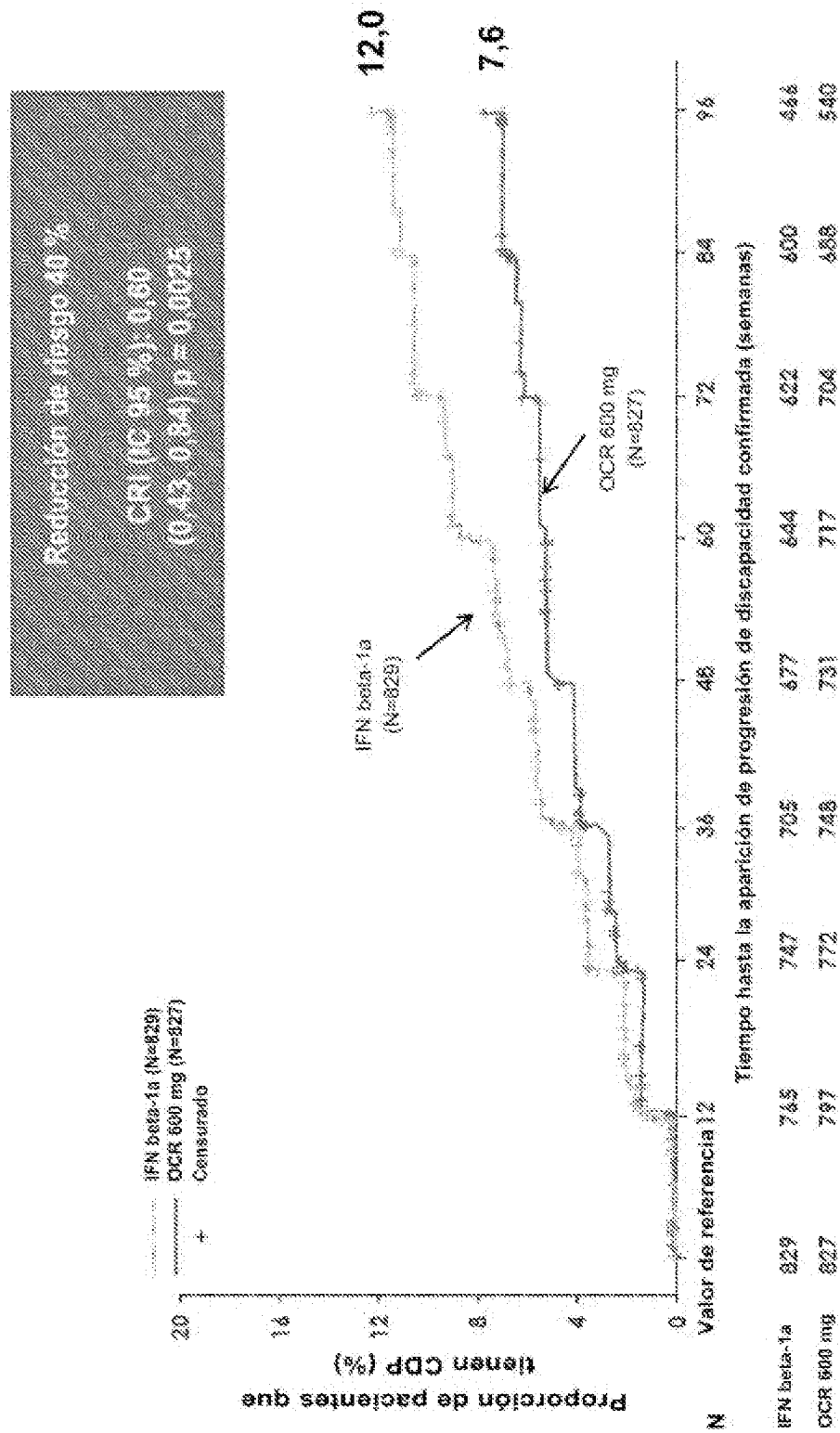


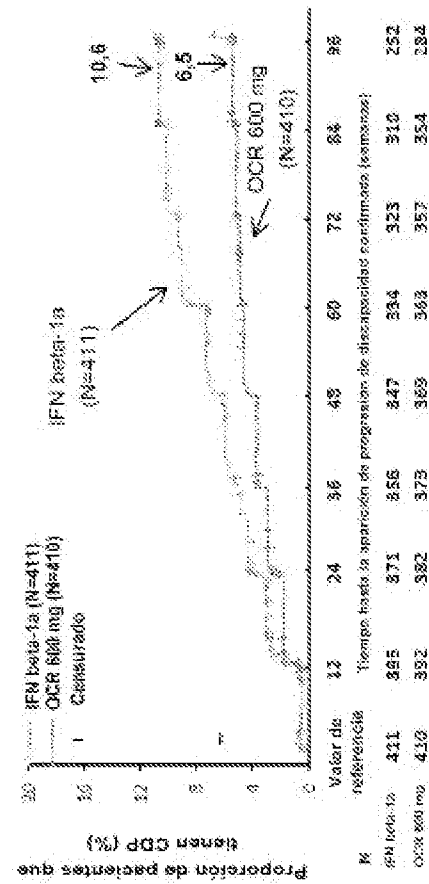
FIG. 14

A

ESTUDIO I

Reducción de riesgo: 43 %

CRI (IC 95 %): 0.57 (0.34, 0.95)
p=0.0278



B

ESTUDIO II

Reducción de riesgo: 37 %

CRI (IC 95 %): 0.63 (0.40, 0.98)
p=0.0370

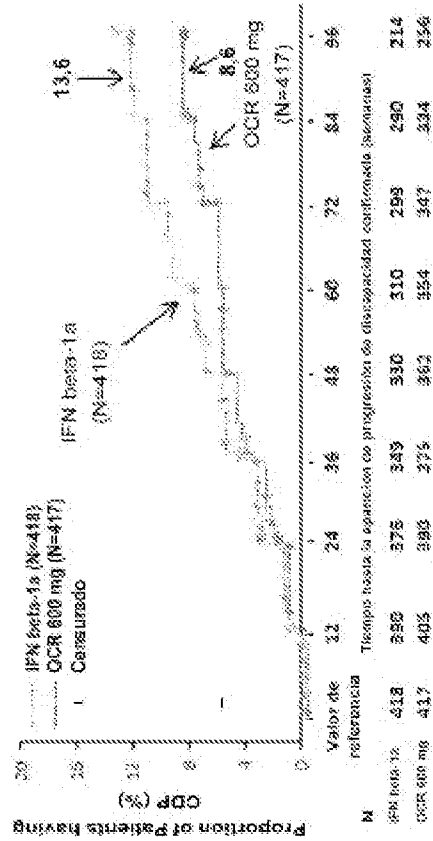


FIG. 15

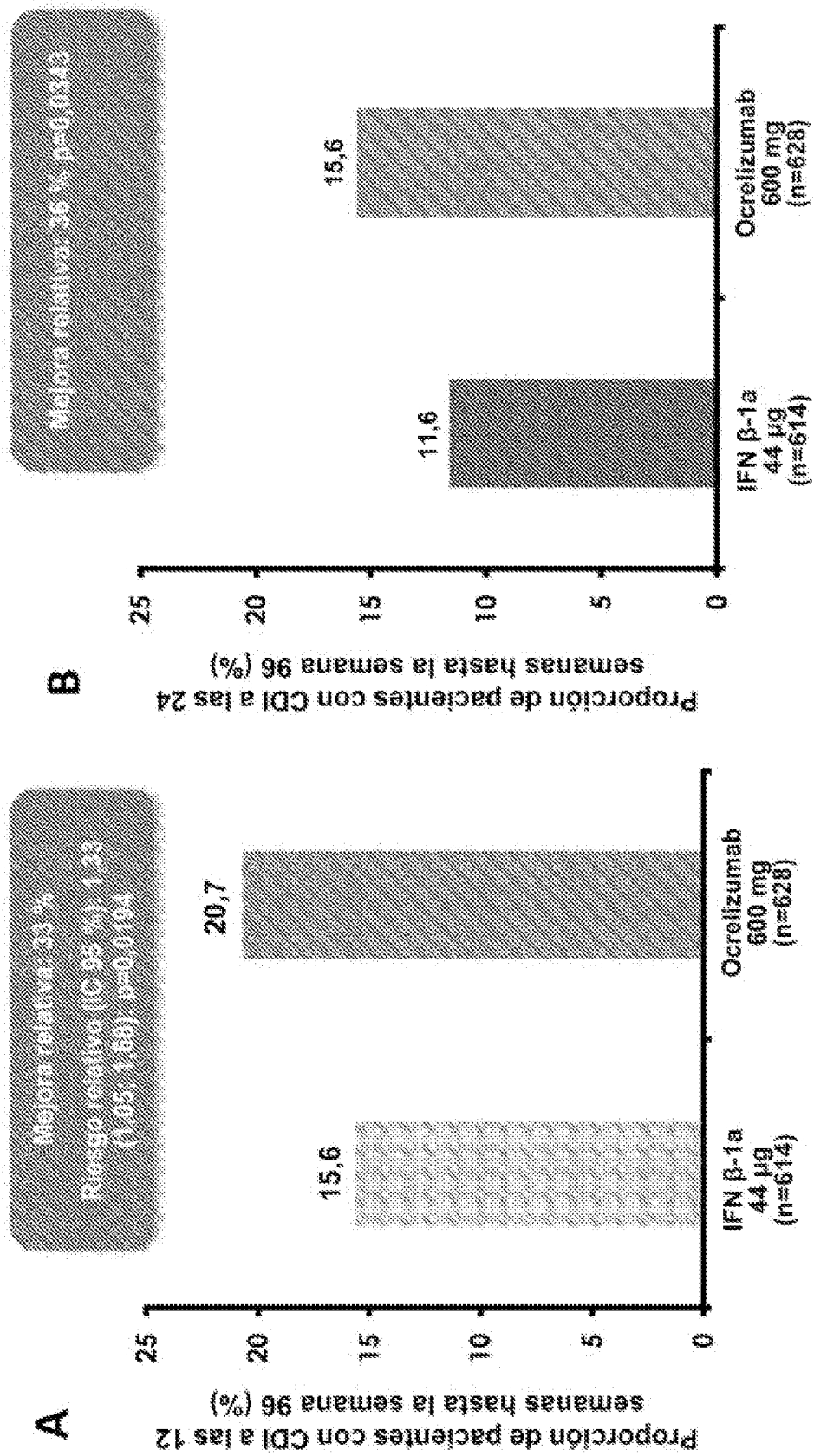
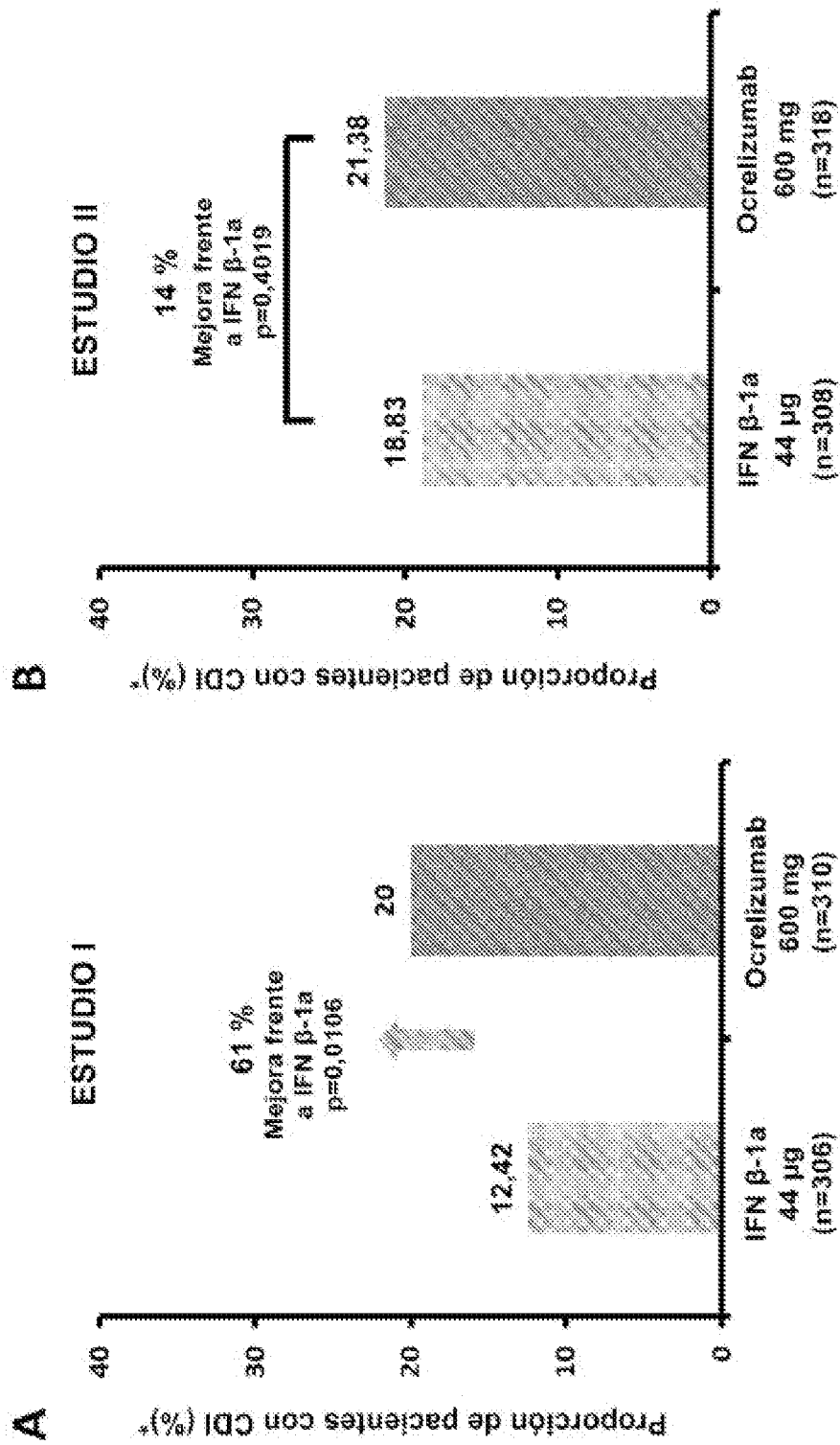


FIG. 16



*Comparado usando la prueba de la χ^2 de Cochran-Mantel-Haenszel estratificada por región geográfica (Estados Unidos frente a ROW) y la puntuación EDSS de referencia (<4.0 frente a ≥ 4.0).
t_xxi_cmh_CDI12_IT_082_0.3_1_cdi_cmh_CDI12_IT_083_0.2.

FIG. 16C

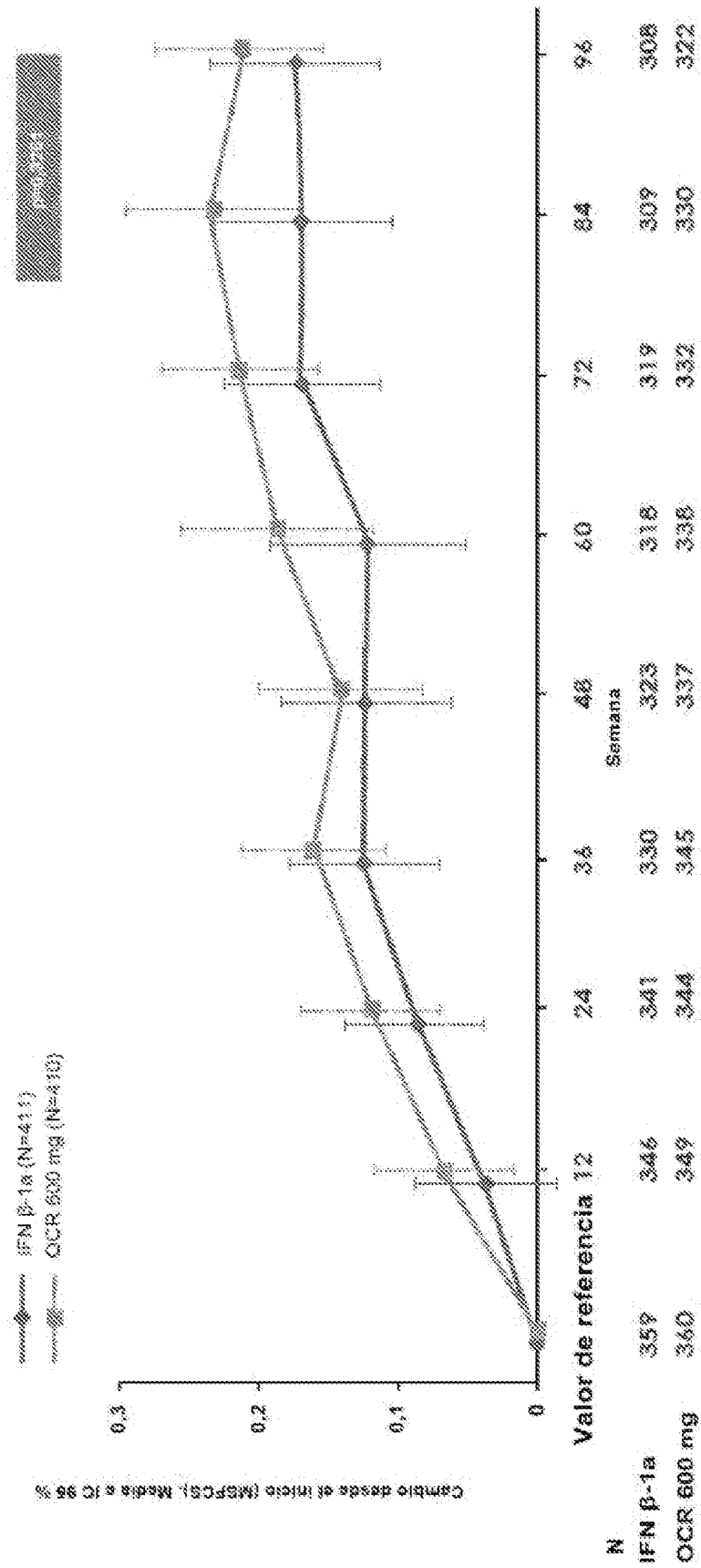


FIG. 16D

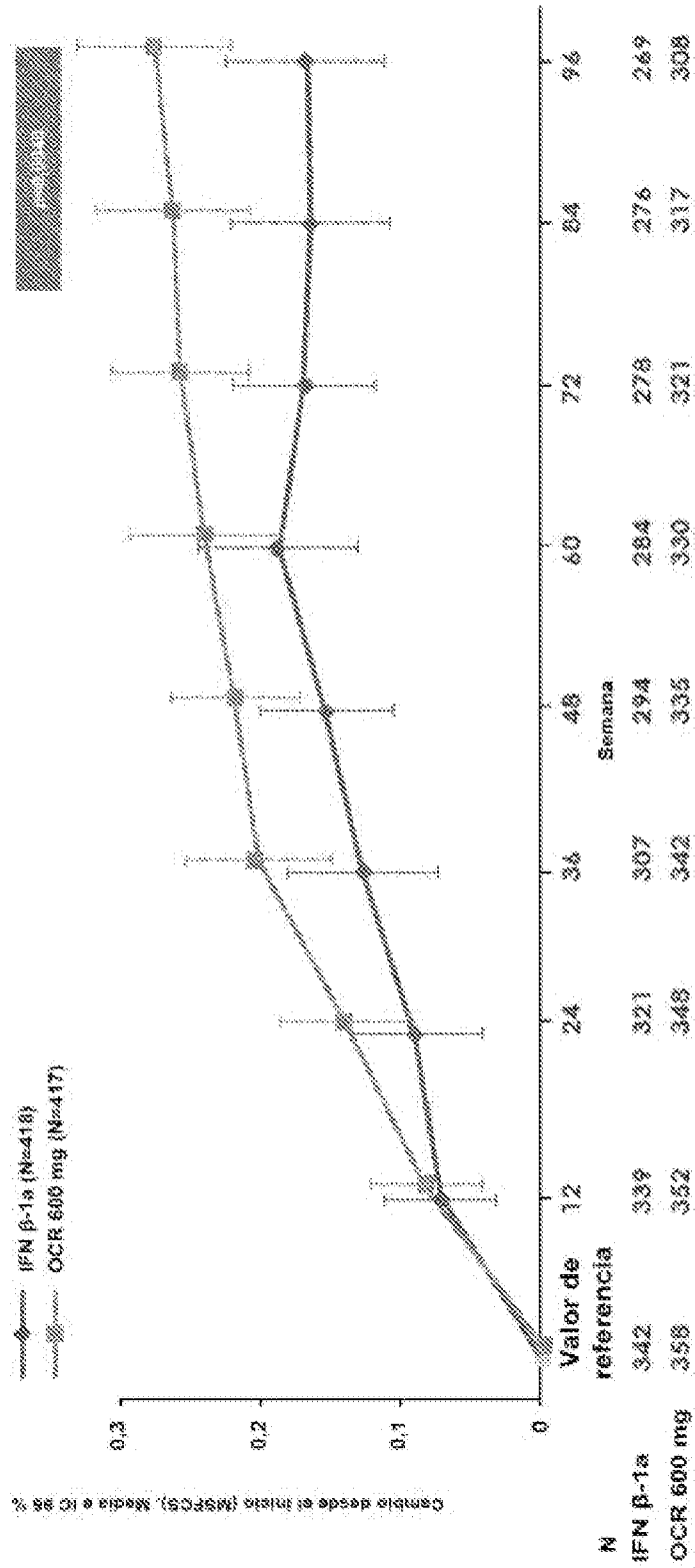
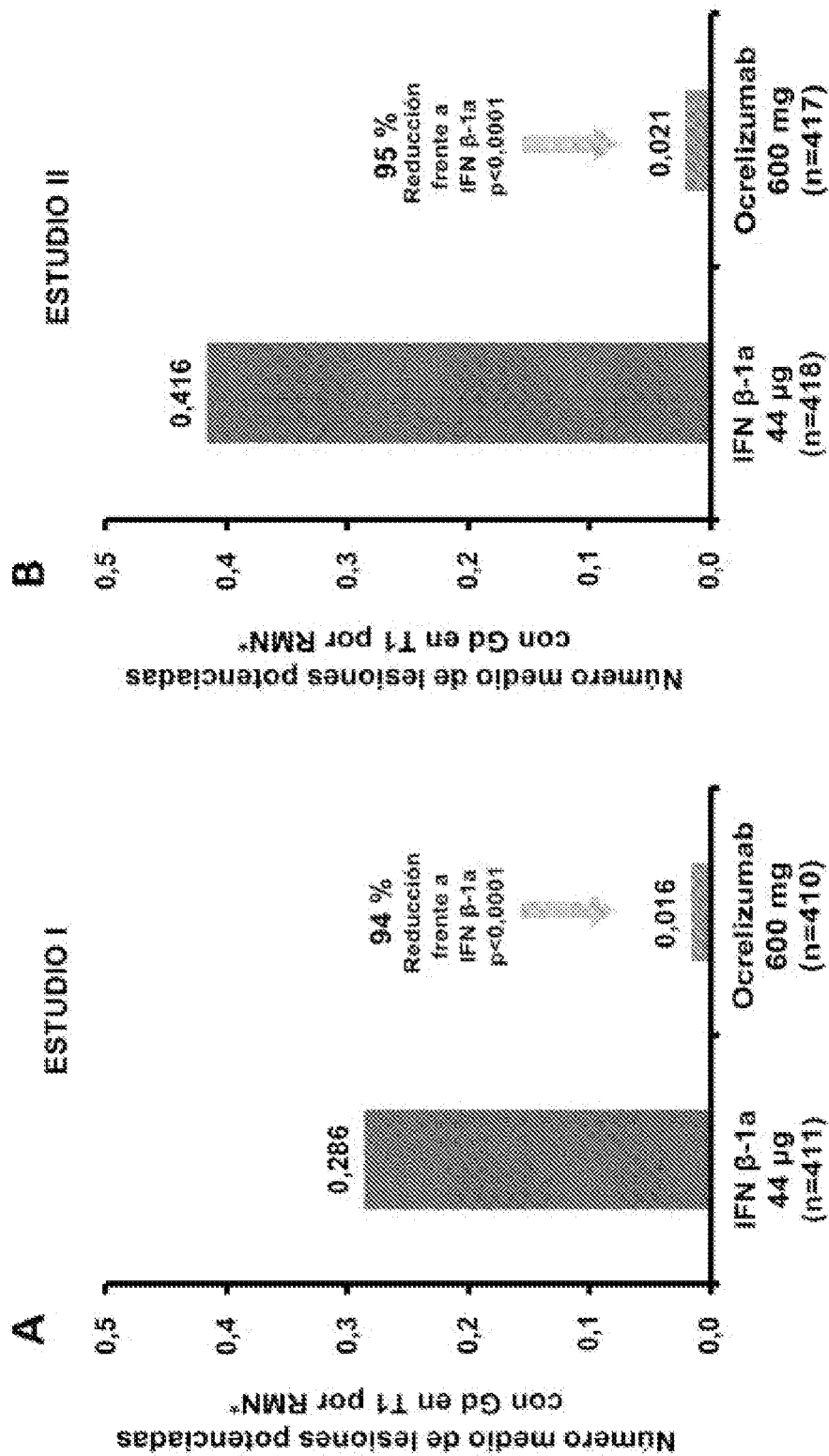
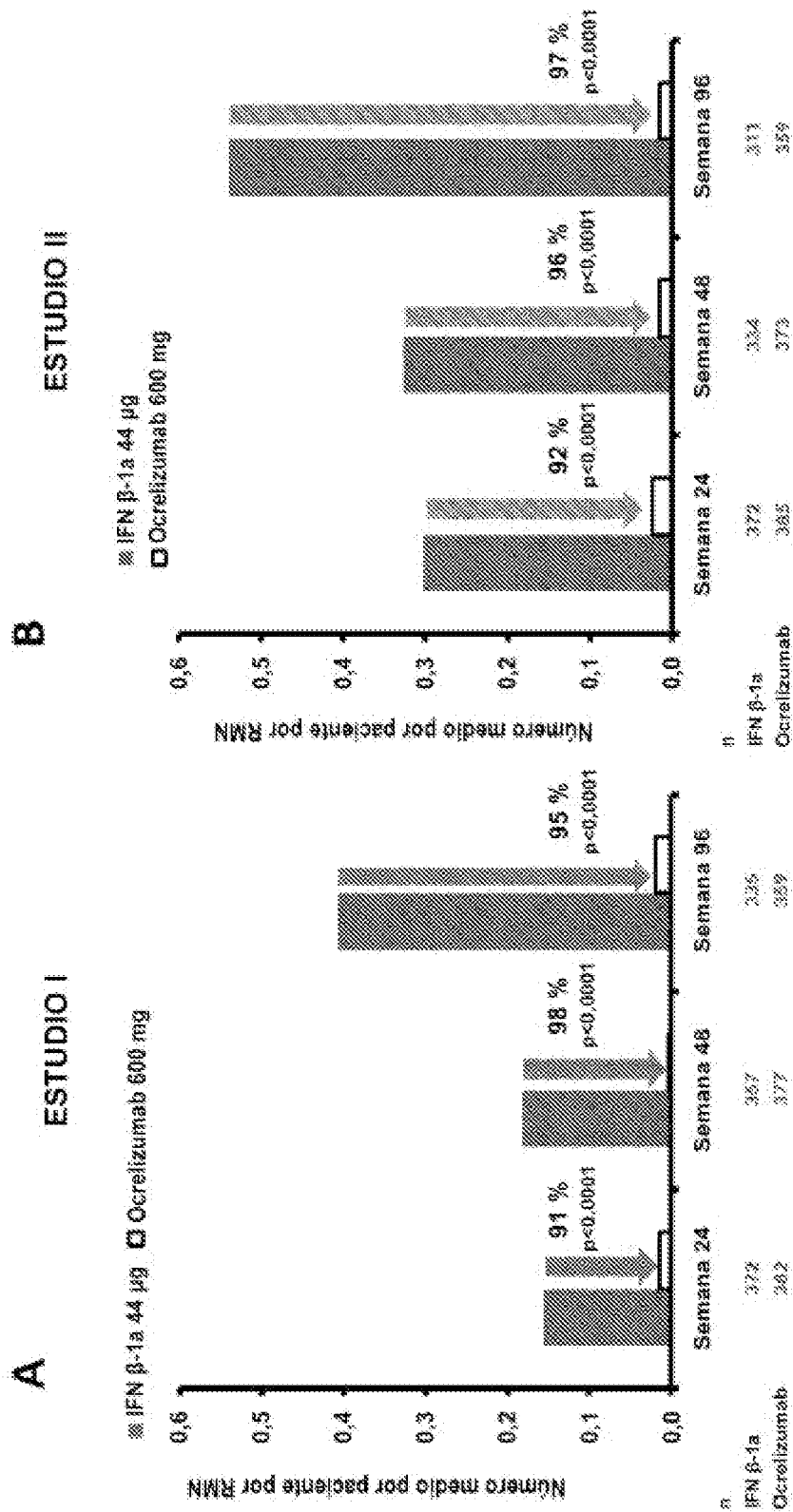


FIG. 17



*Ajustado por lesión Gd en T1 de referencia (presente o no), EDSS de referencia (<4,0 frente a $\geq 4,0$) y región geográfica (EE. UU. frente a ROW).

FIG. 18



*Ajustado por lesión Gd en T1 de referencia (presente o no), EDSS de referencia (<4,0 frente a ≥4,0) y región geográfica (EE. UU. frente a ROW).

FIG. 19

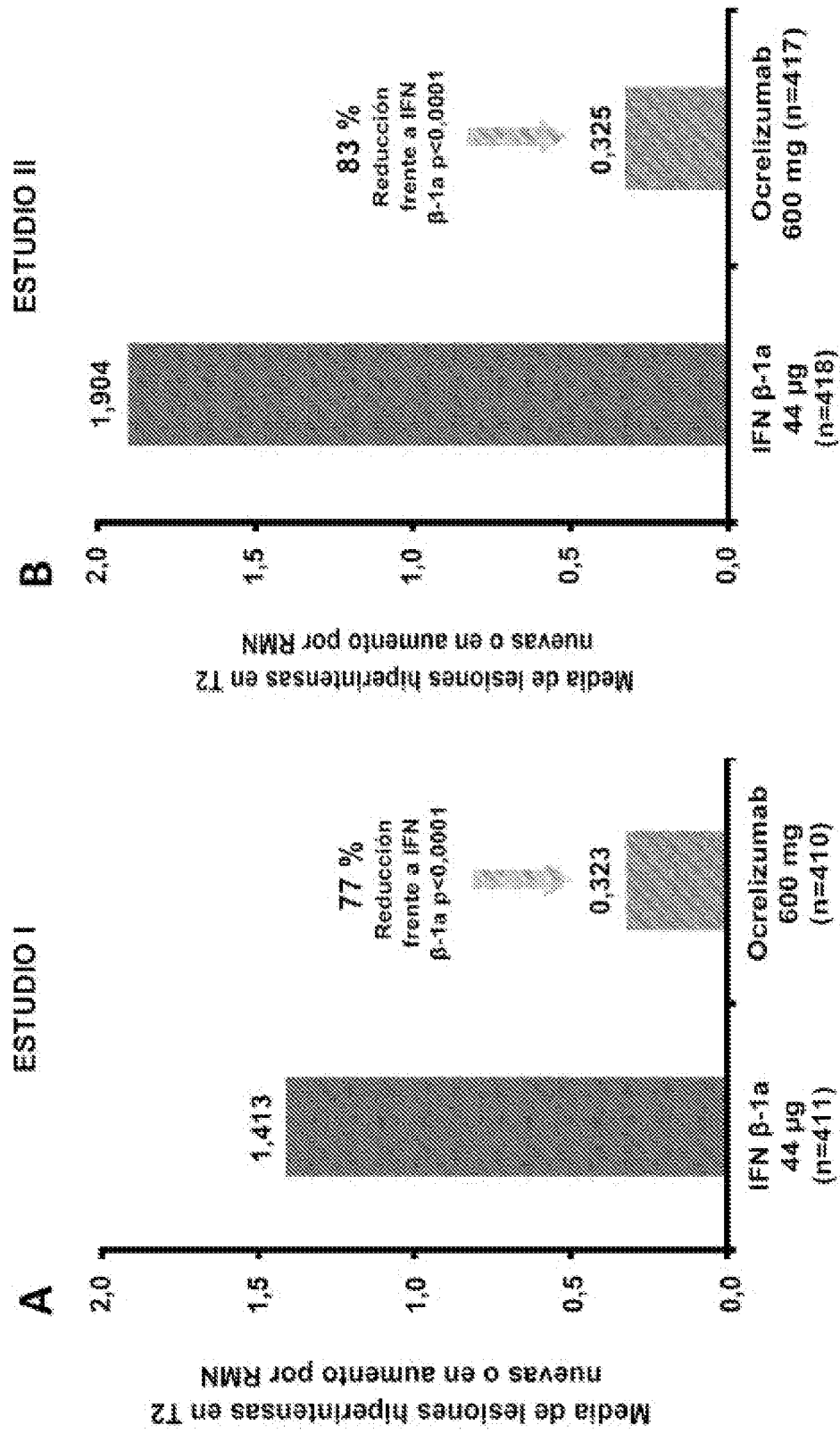
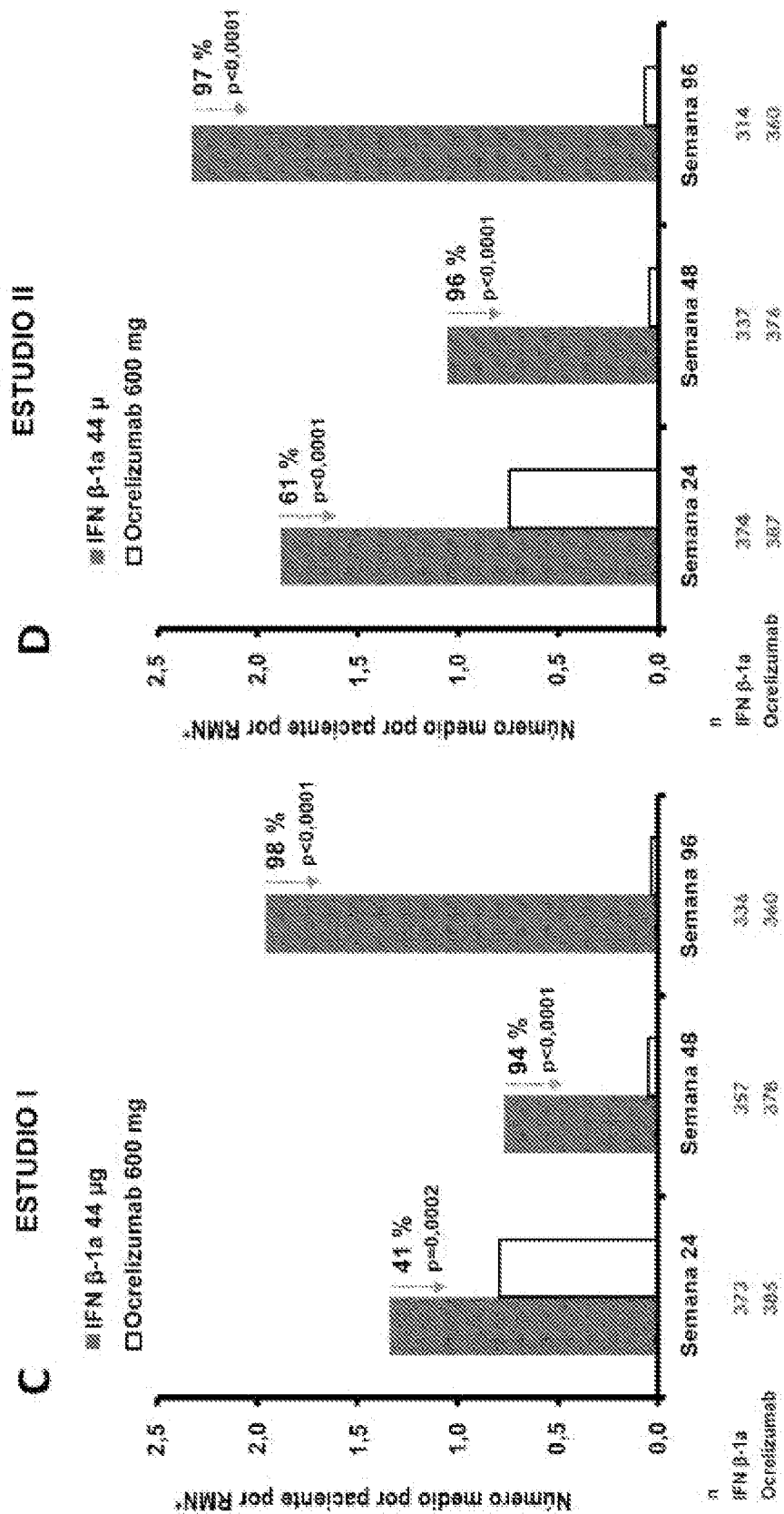
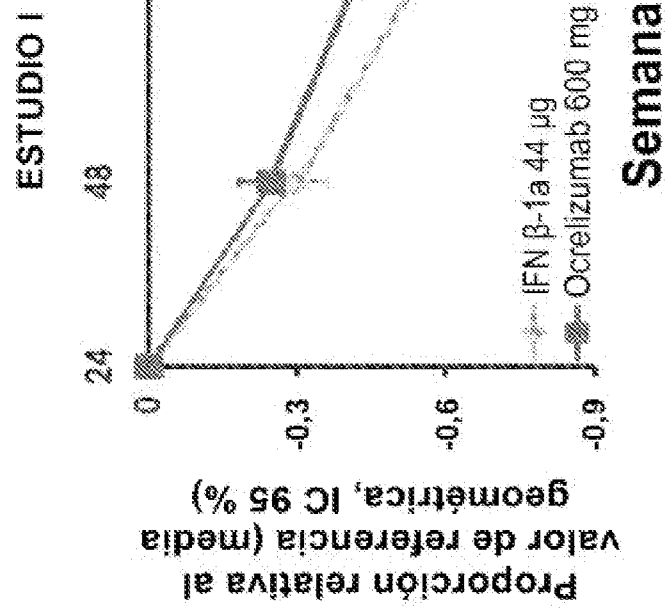


FIG. 19 (cont.)



De la semana 24 a la semana 96

A



B

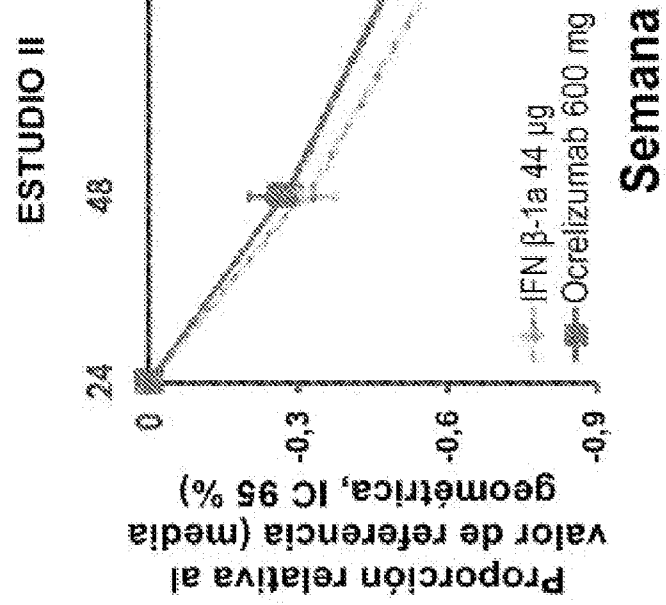


FIG. 20

FIG. 21

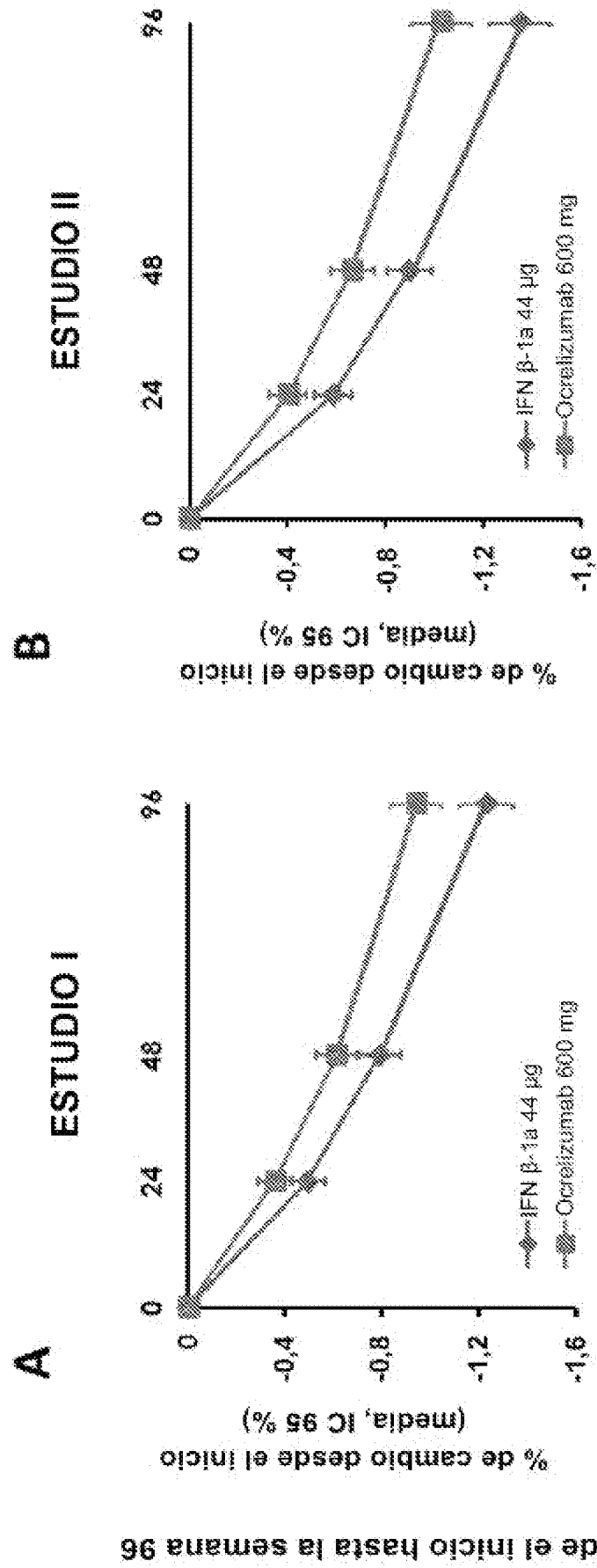
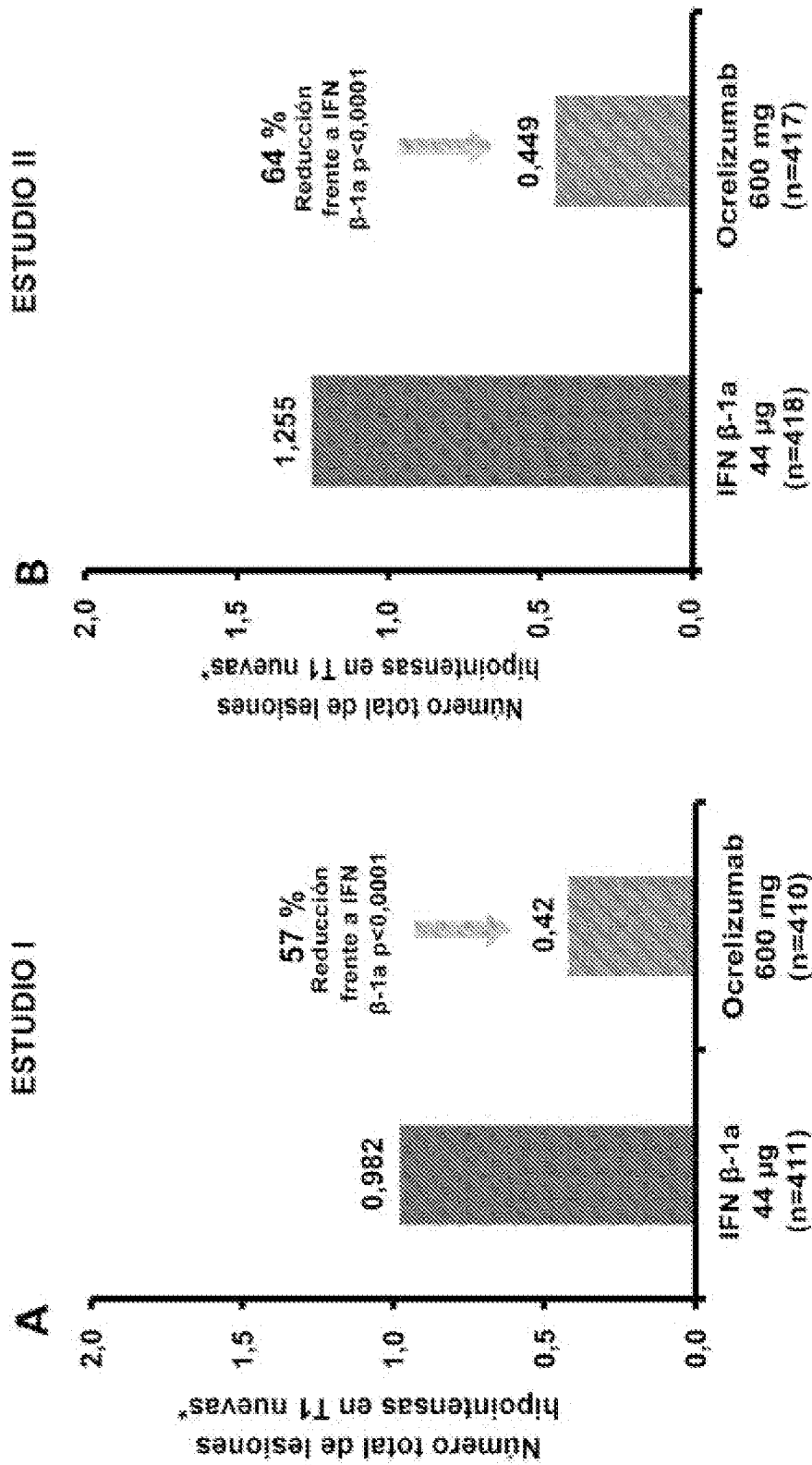


FIG. 22



*Ajustado por recuento de lesiones hipointensas en T1 de referencia, EDSS de referencia ($< 4,0$ frente a $\geq 4,0$) y región geográfica (EE. UU. frente a ROW).

FIG. 23

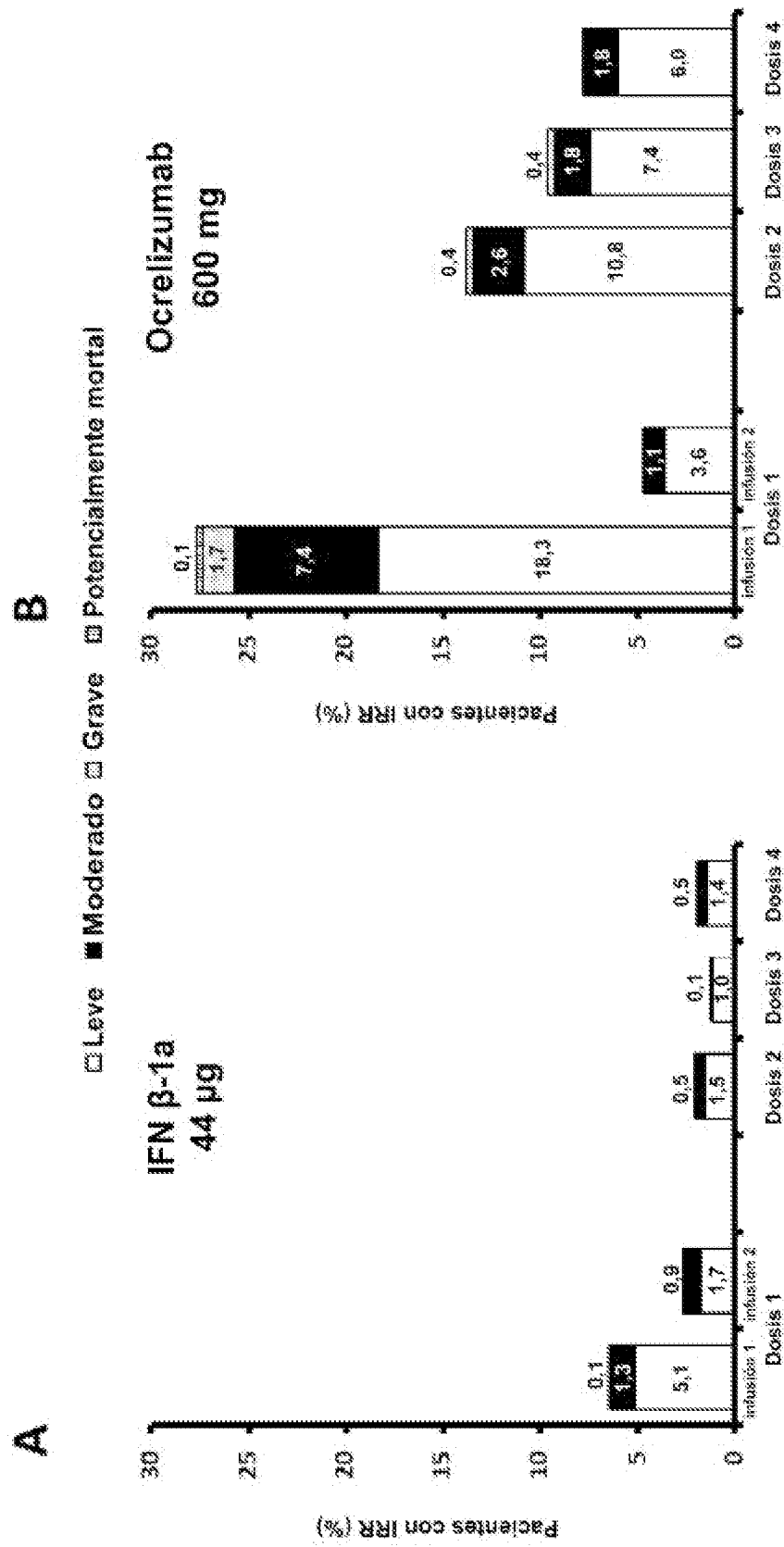
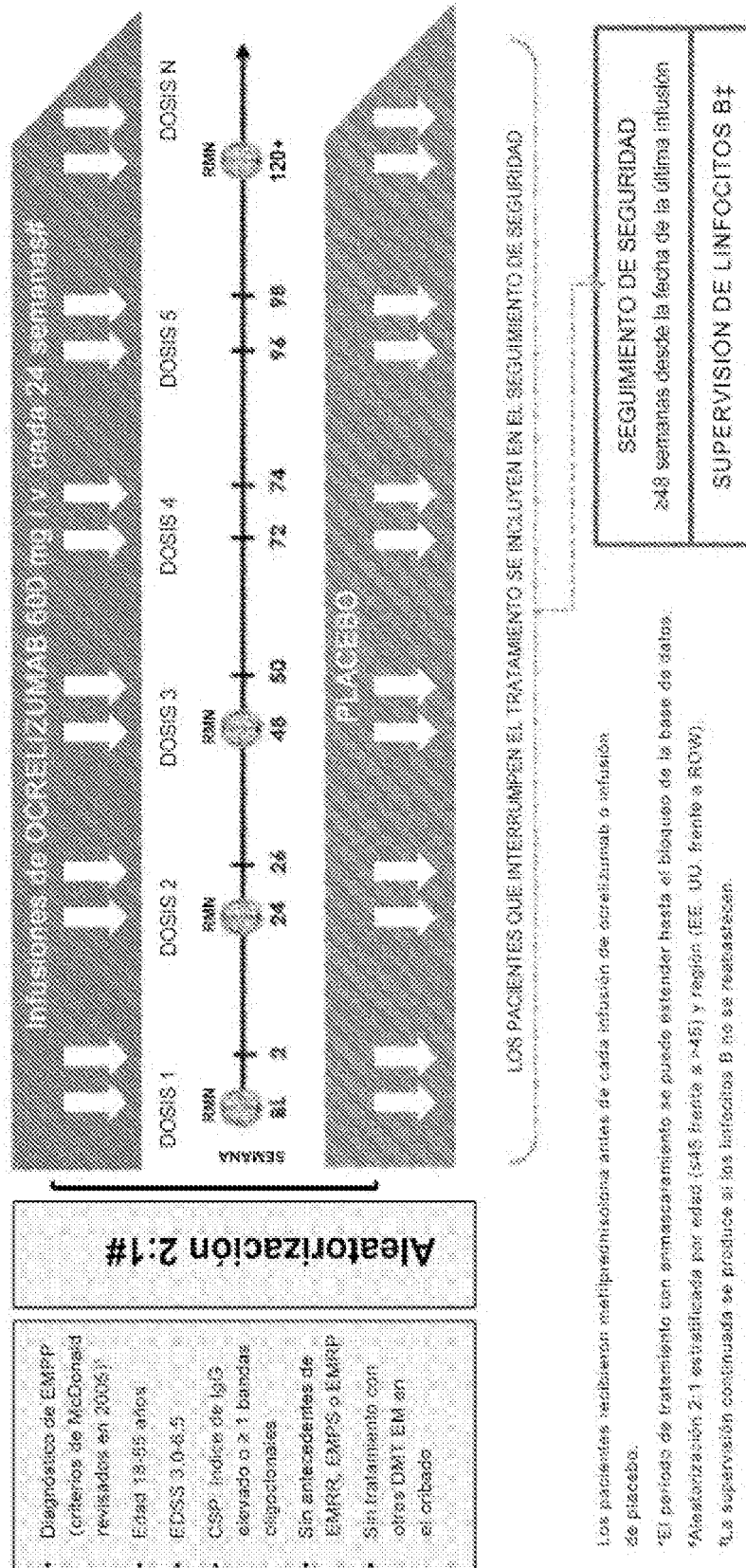


FIG. 24

Período de tratamiento con enmascaramiento

Minimo cinco dosis de tratamiento a las 24 semanas para un total de 120 semanas*



Los pacientes recibieren metilprednisolona antes de cada infusión de ocelizumab o infusión de placebo.

*El periodo de tratamiento con enmascaramiento se puede extender hasta el bloqueo de la base de datos.

†Aleatorización 2:1 estratificada por edad (≤45 frente a >45) y región (EE. UU. frente a ROW).

‡La supervisión continuada se produce si los linfocitos B no se reatastacan.

LCR, líquido cefalorraquídeo; DMT, tratamiento modificador de enfermedad; EDSS, escala ampliada del estado de discapacidad; i.v., intravenosa; RMN, resonancia magnética nuclear.

FIG. 25

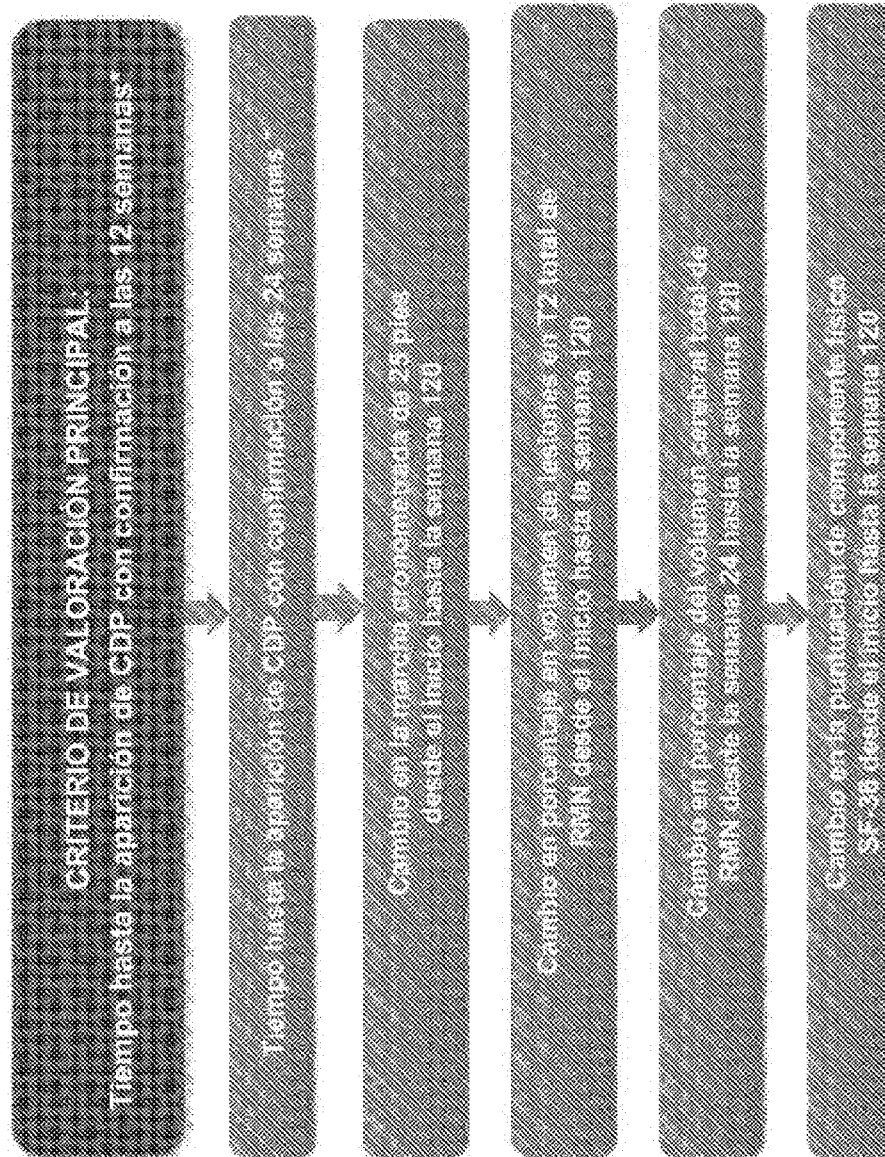


FIG. 26

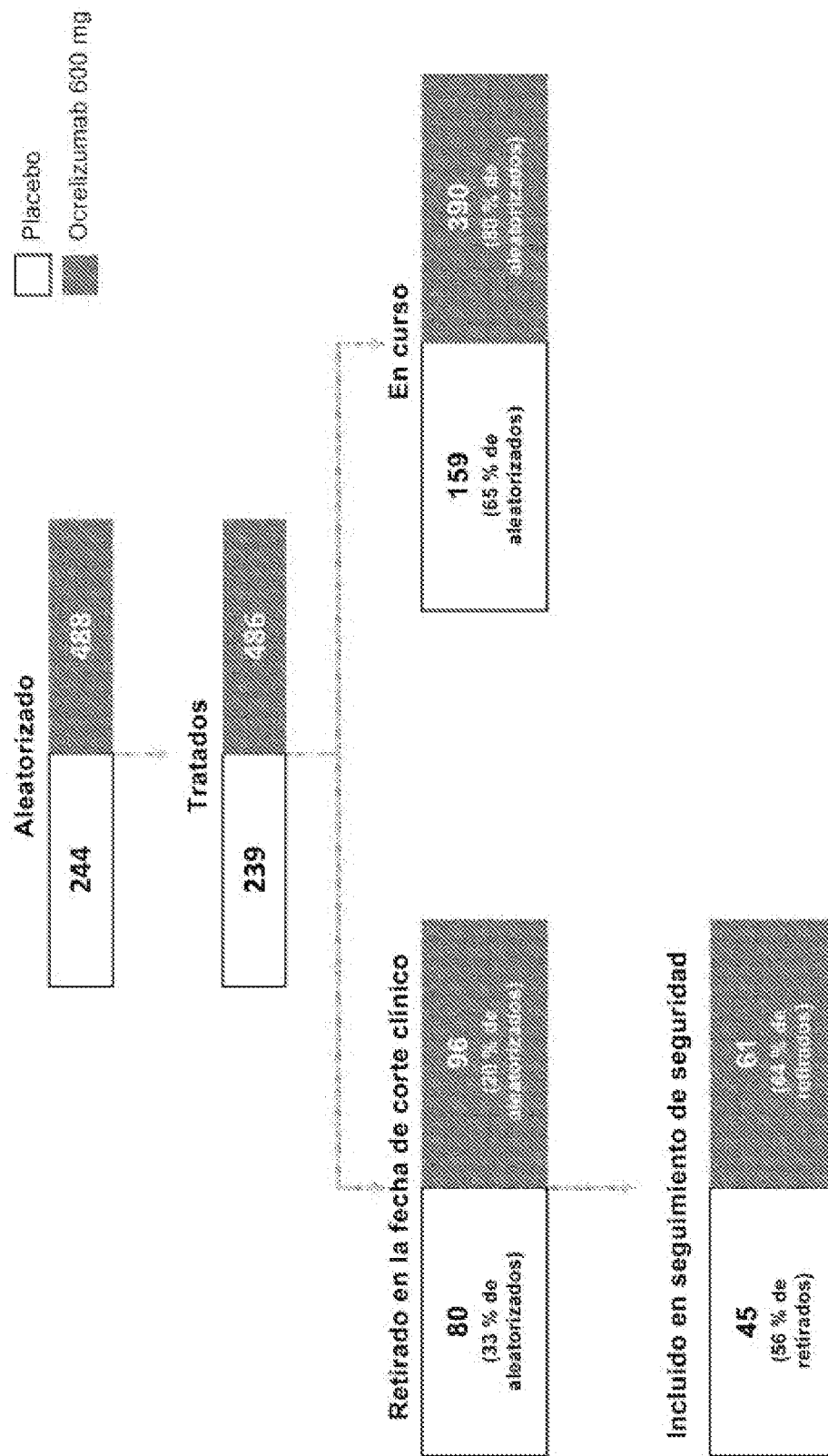


FIG. 27

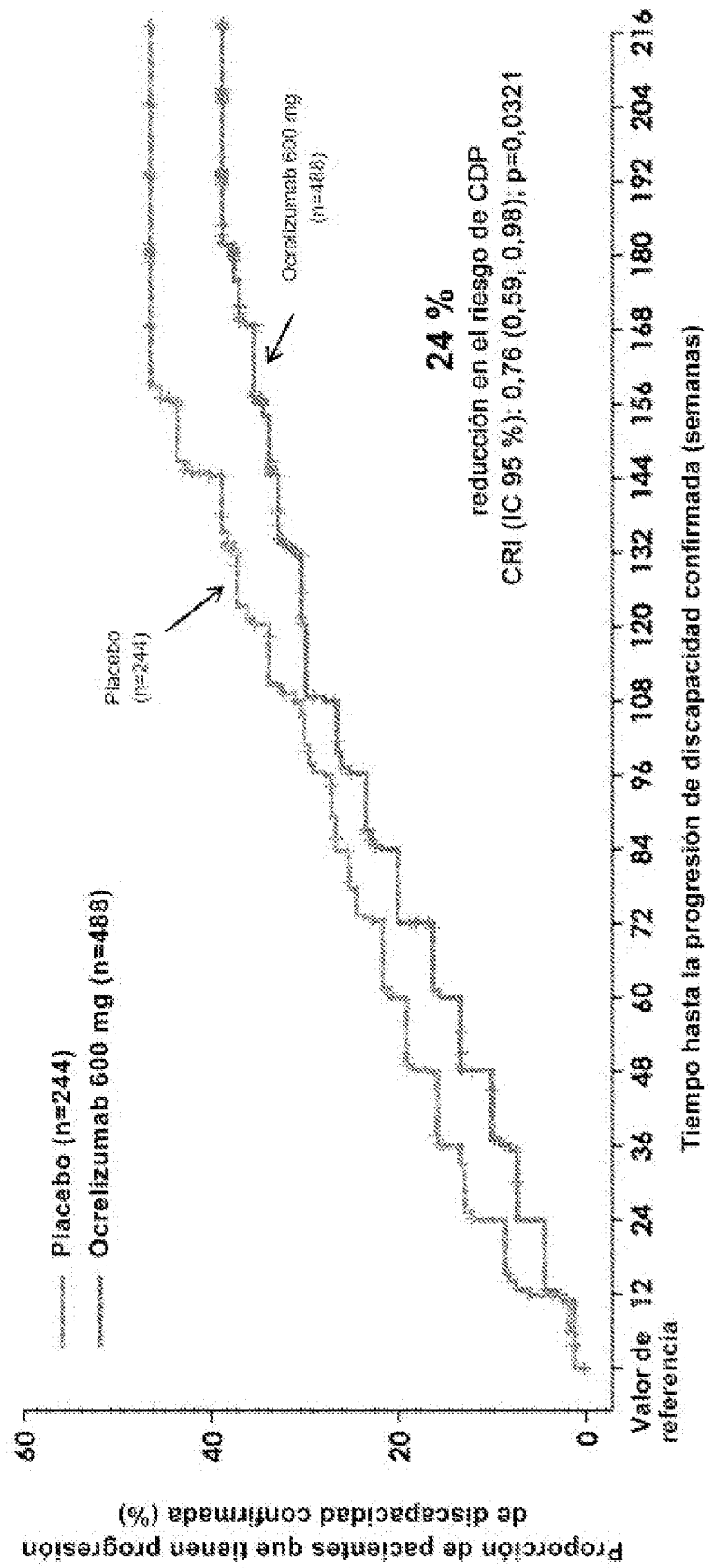


FIG. 28

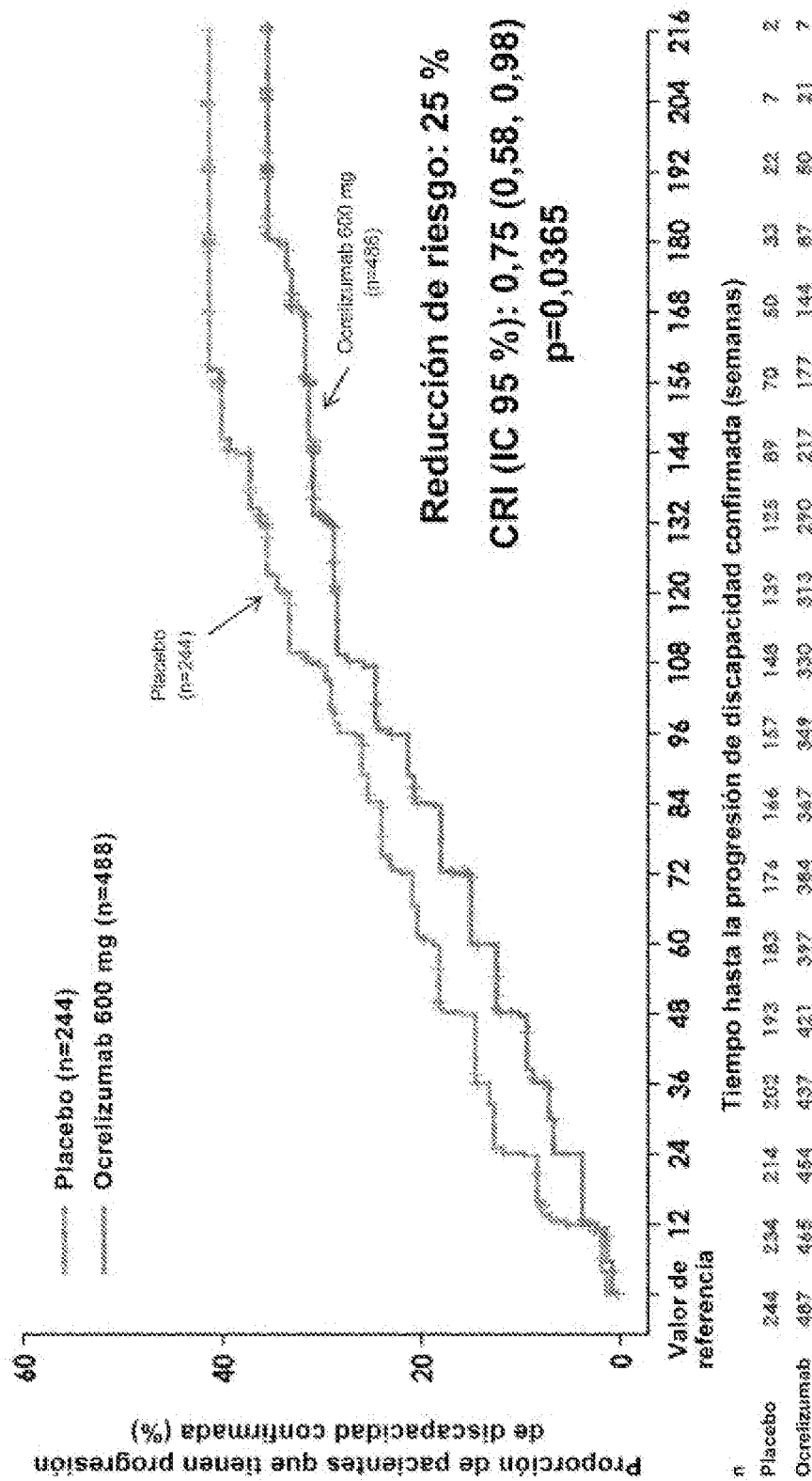


FIG. 29

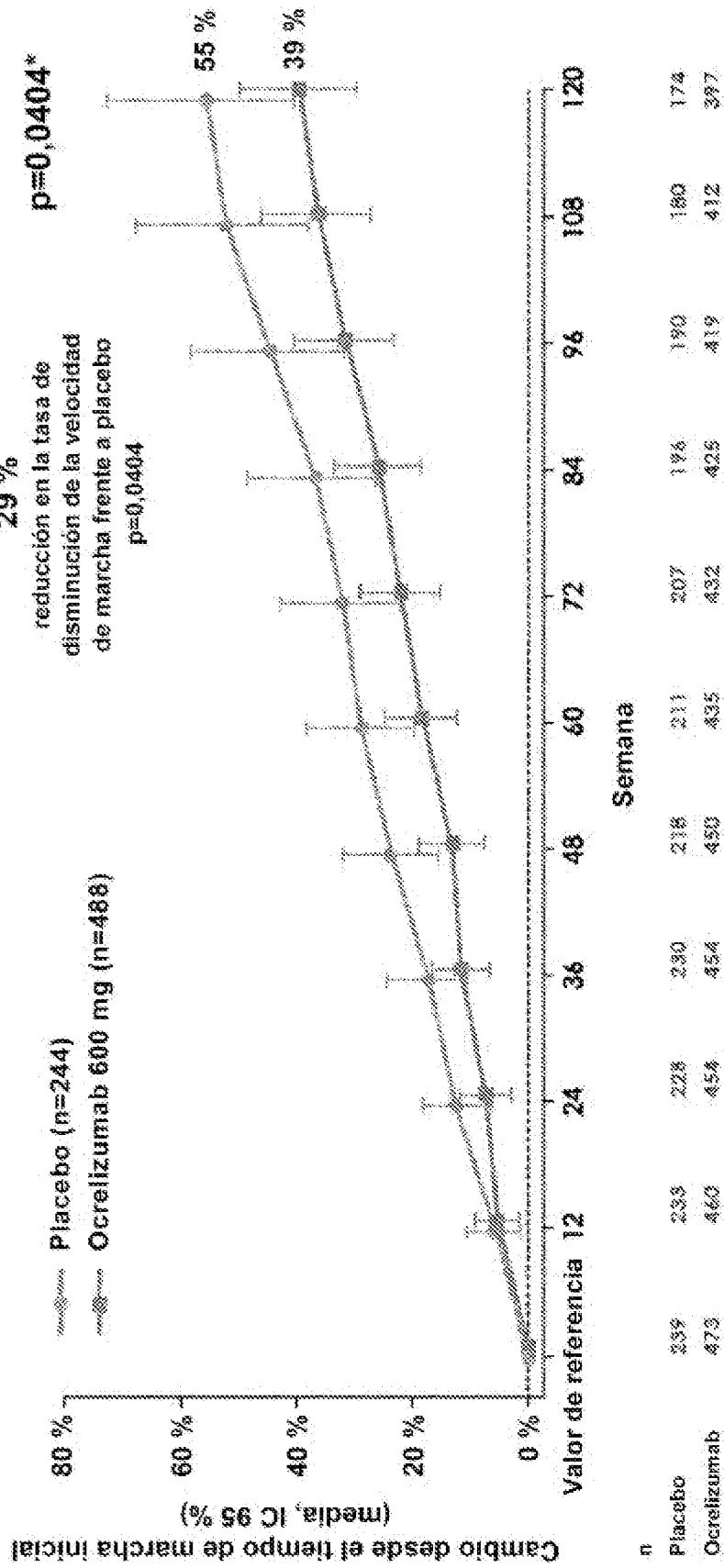


FIG. 30

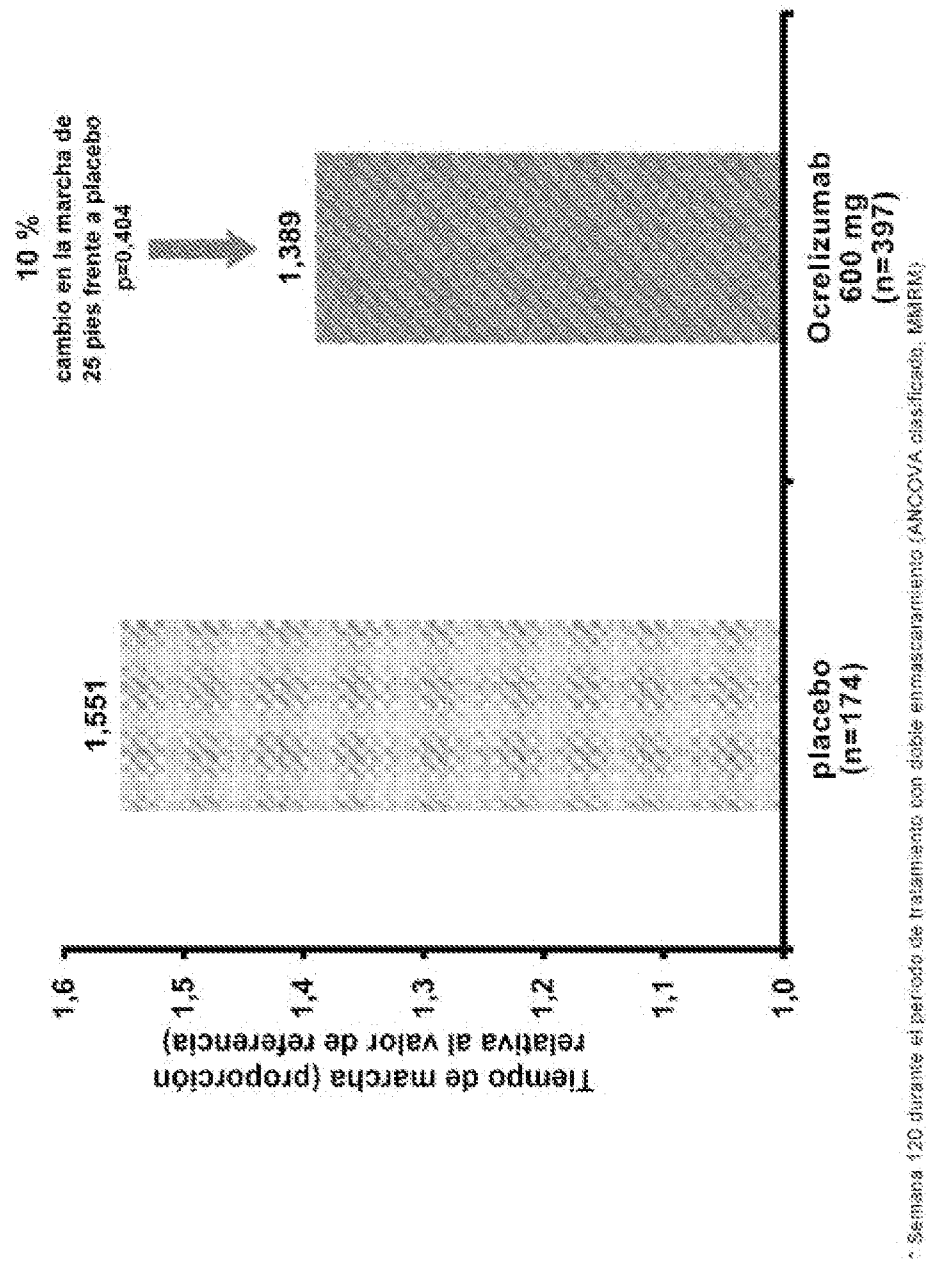


FIG. 31

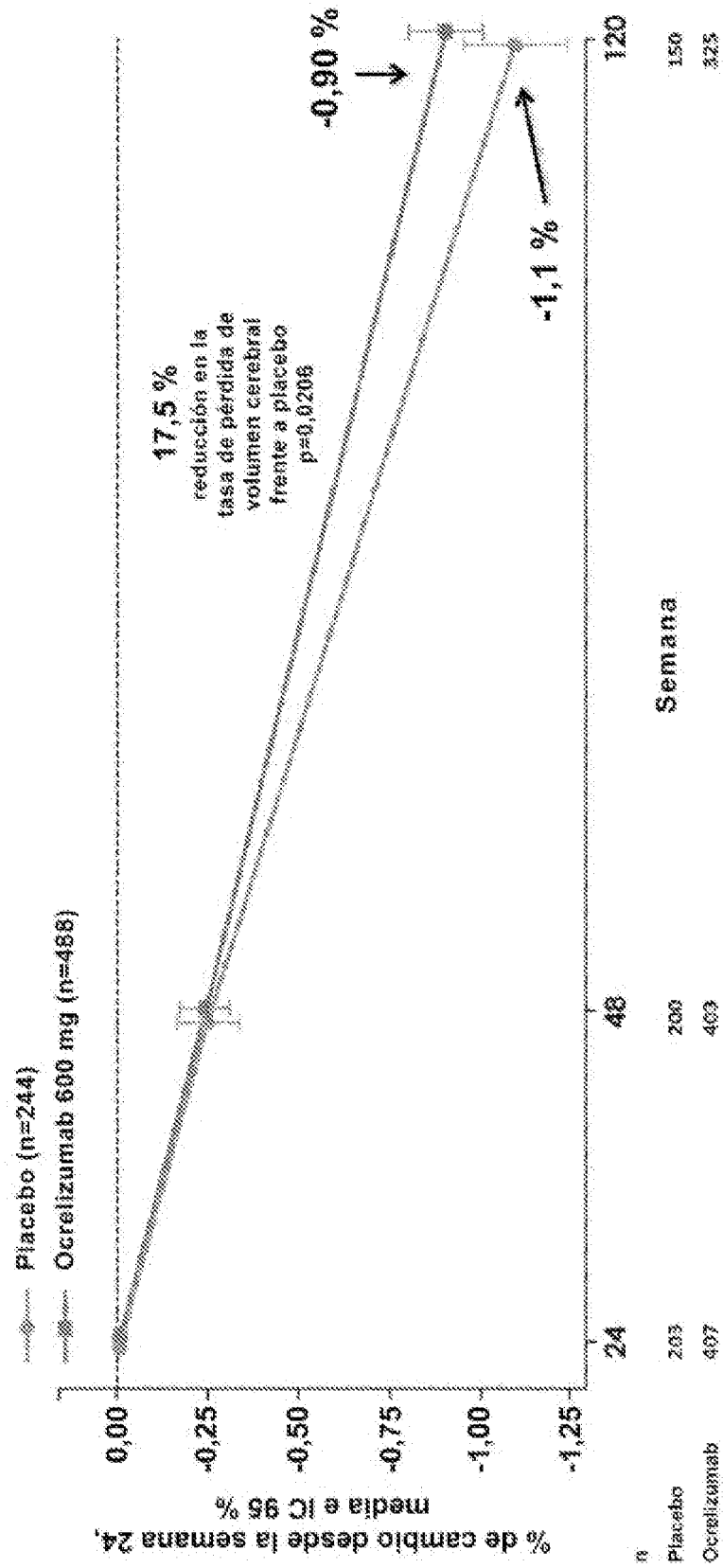


FIG. 32

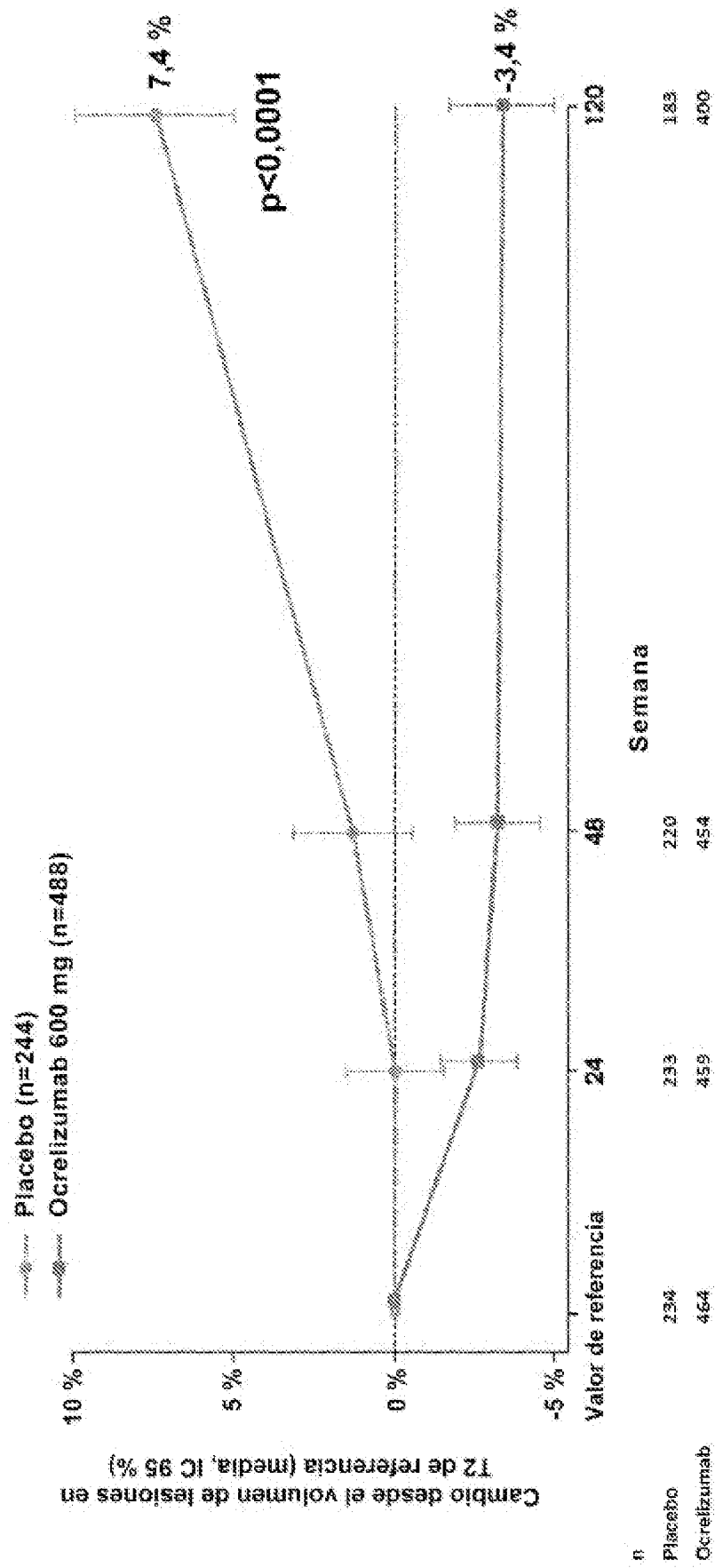


FIG. 33

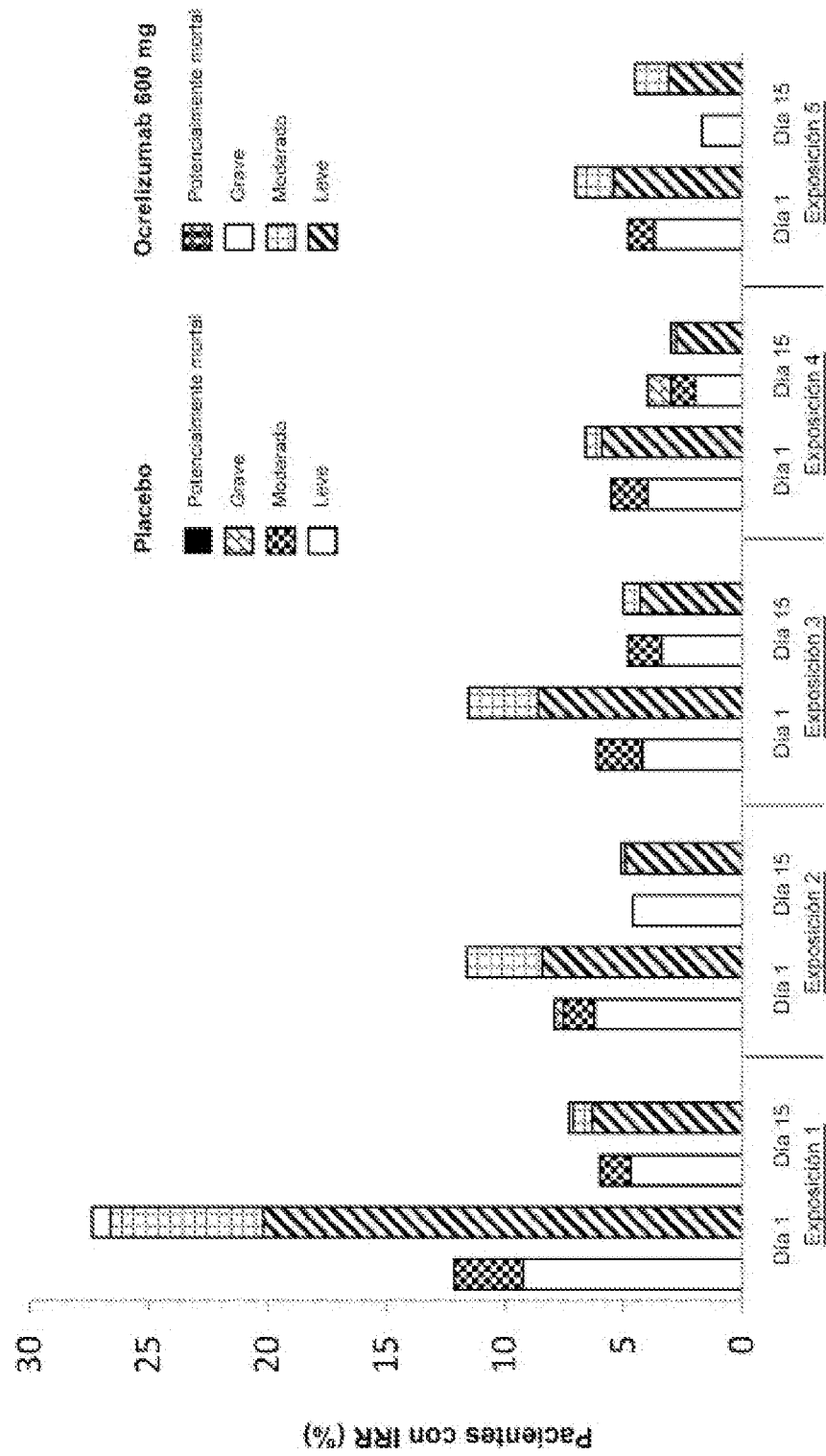
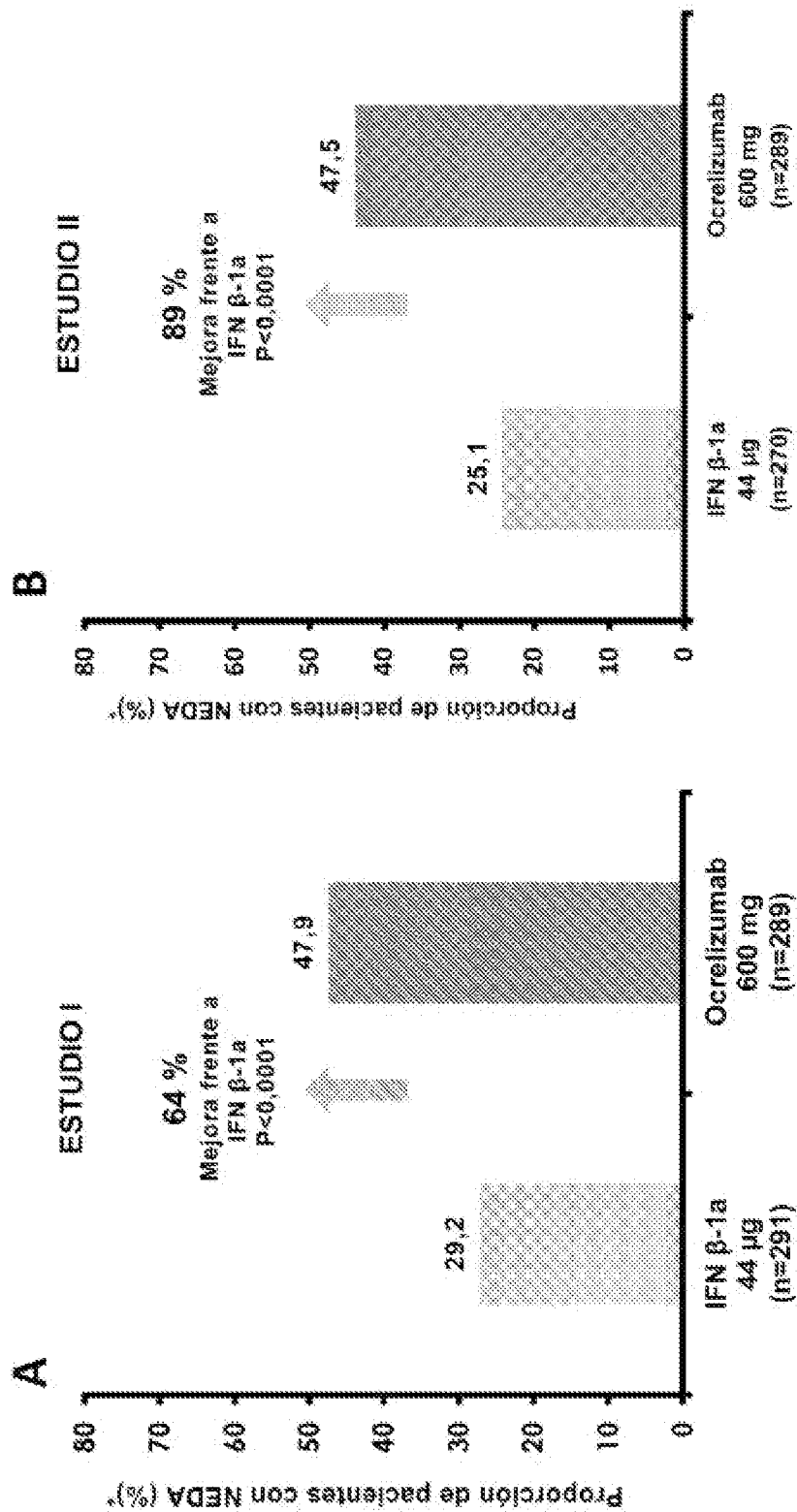


FIG. 34



*Comparado usando la prueba de la χ^2 de Cochran-Mantel-Haenszel estratificada por región geográfica (Estados Unidos frente a ROW) y la puntuación EDSS de referencia ($\leq 4,0$ frente a $\geq 4,0$).
†nada, con IT 0,02, 0,2, t, nada, con IT 0,03, 0,1

FIG. 35

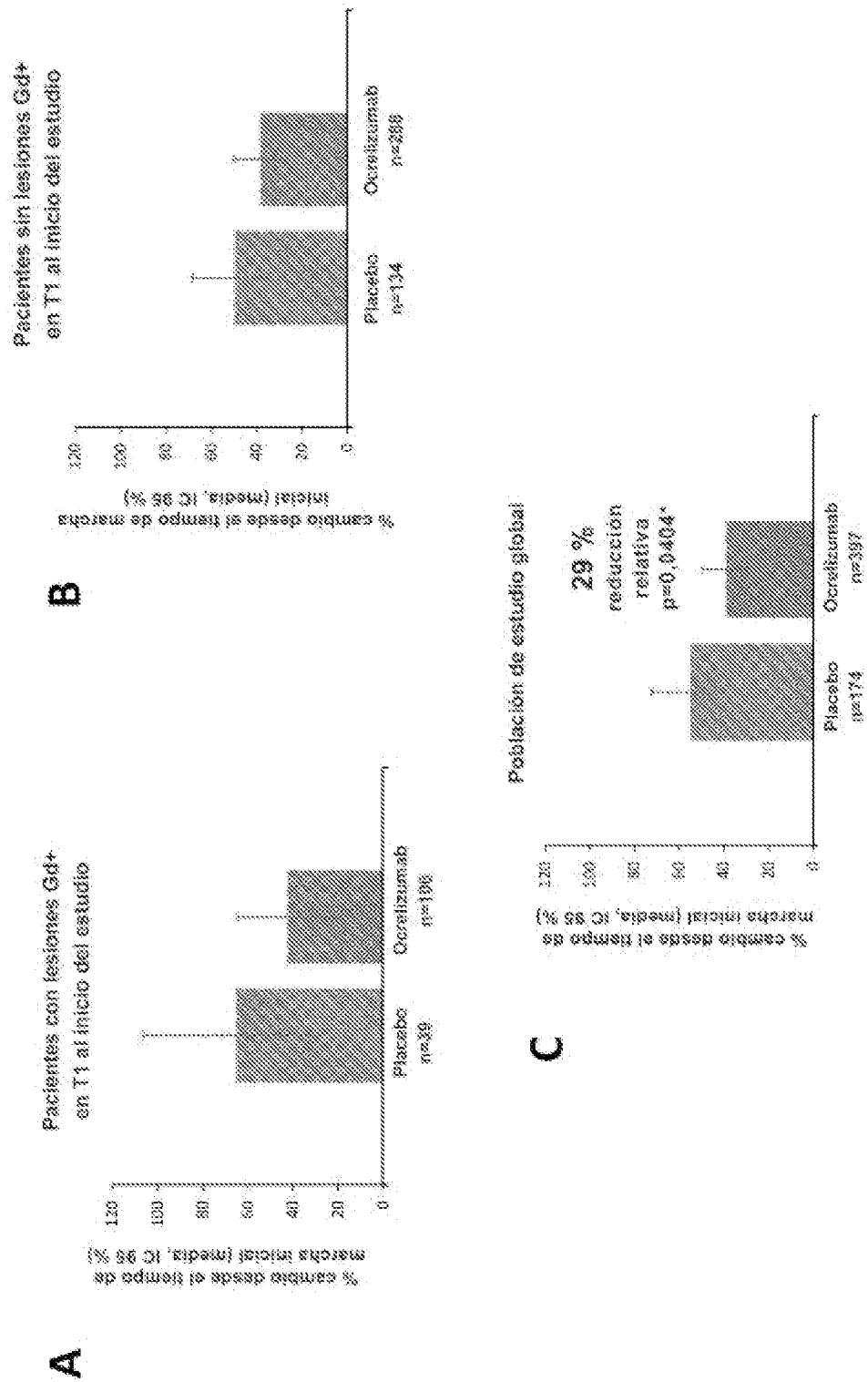


FIG. 36

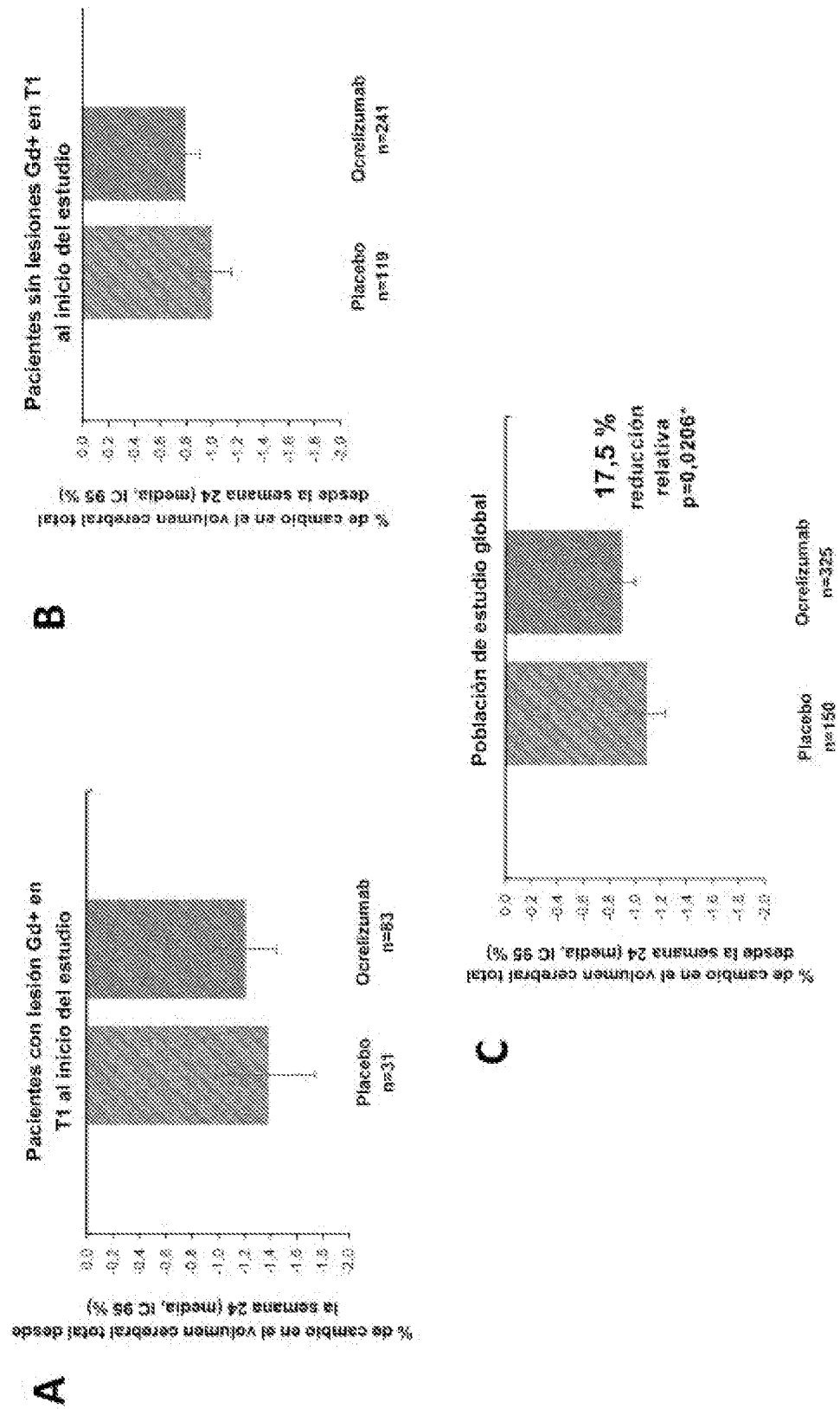


FIG. 37

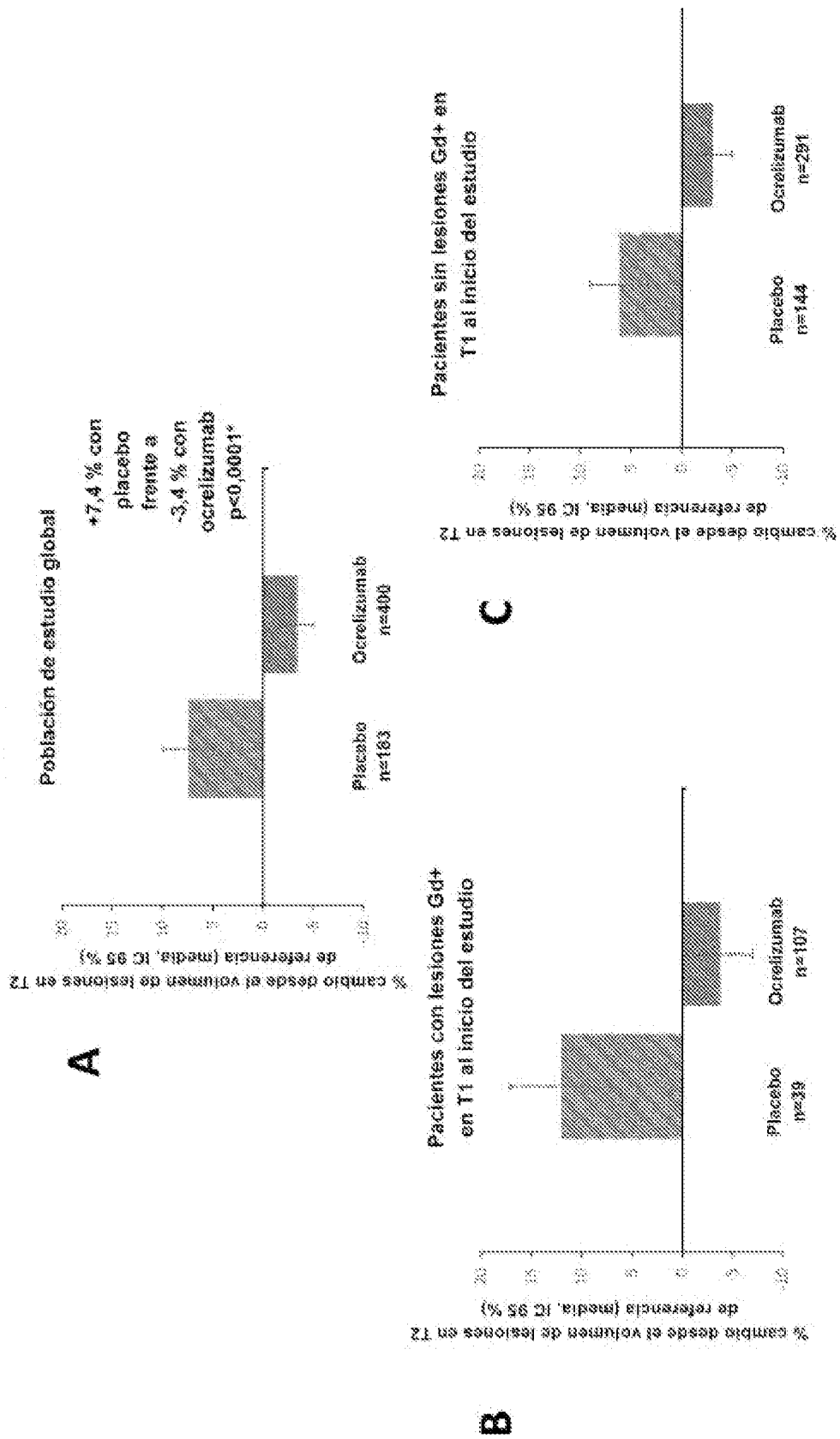
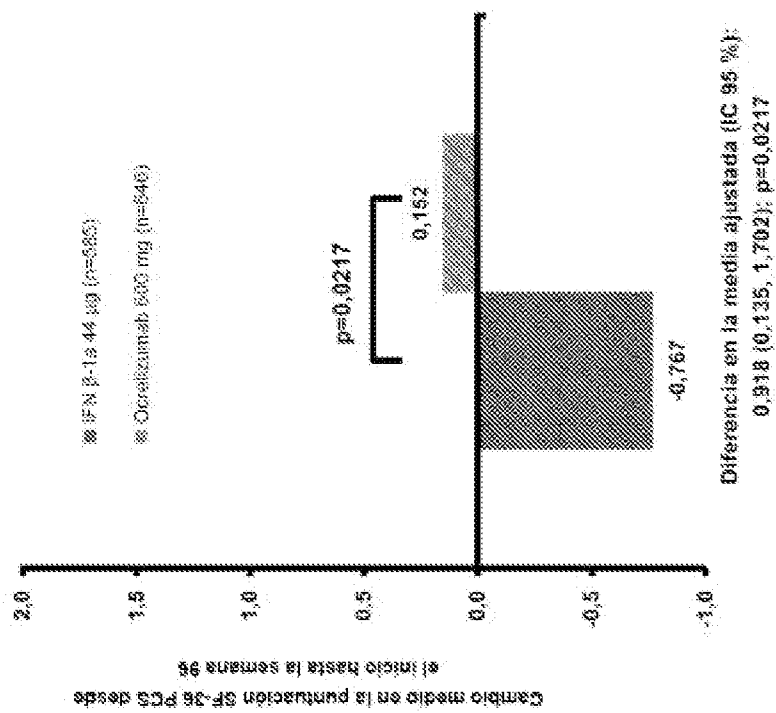


FIG. 38

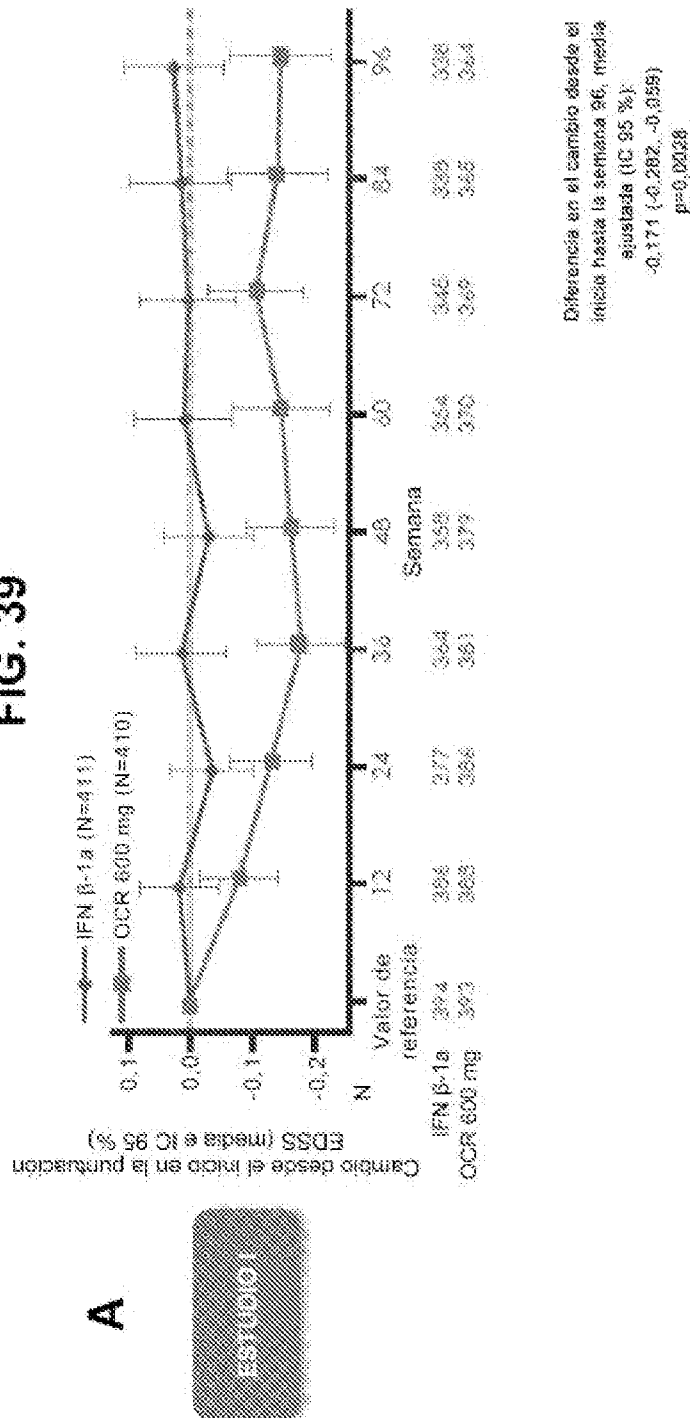


ITT. Análisis post-hoc. Oprelvekin y IF. Equivocidad.

El valor de p para la diferencia en medias ajustadas se basa en el modelo de efectos mixtos de medidas repetidas usando una matriz de covarianza no estructurada, ajustada por estudio, puntuación PCS de referencia, puntuación EDS3 de referencia (<4 U Norte a 24 U) y región geográfica (EE, EU, frente a BCOW).

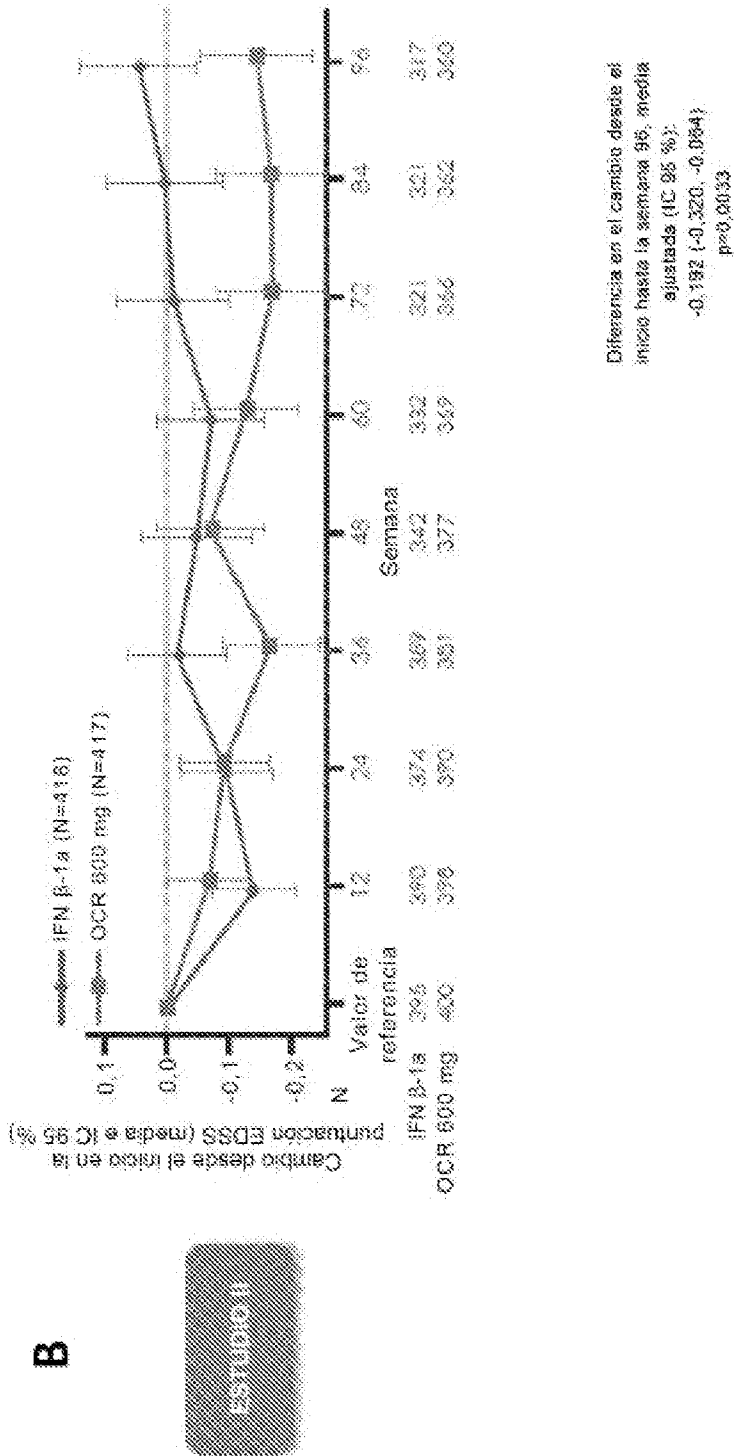
EDS3, escala amplificada del estado de discapacidad; IFN, interferón; PCS, Sumario de componente físico; RCTW, resto del mundo; SP-36, Formulario breve (36); del cuestionario de salud.

336



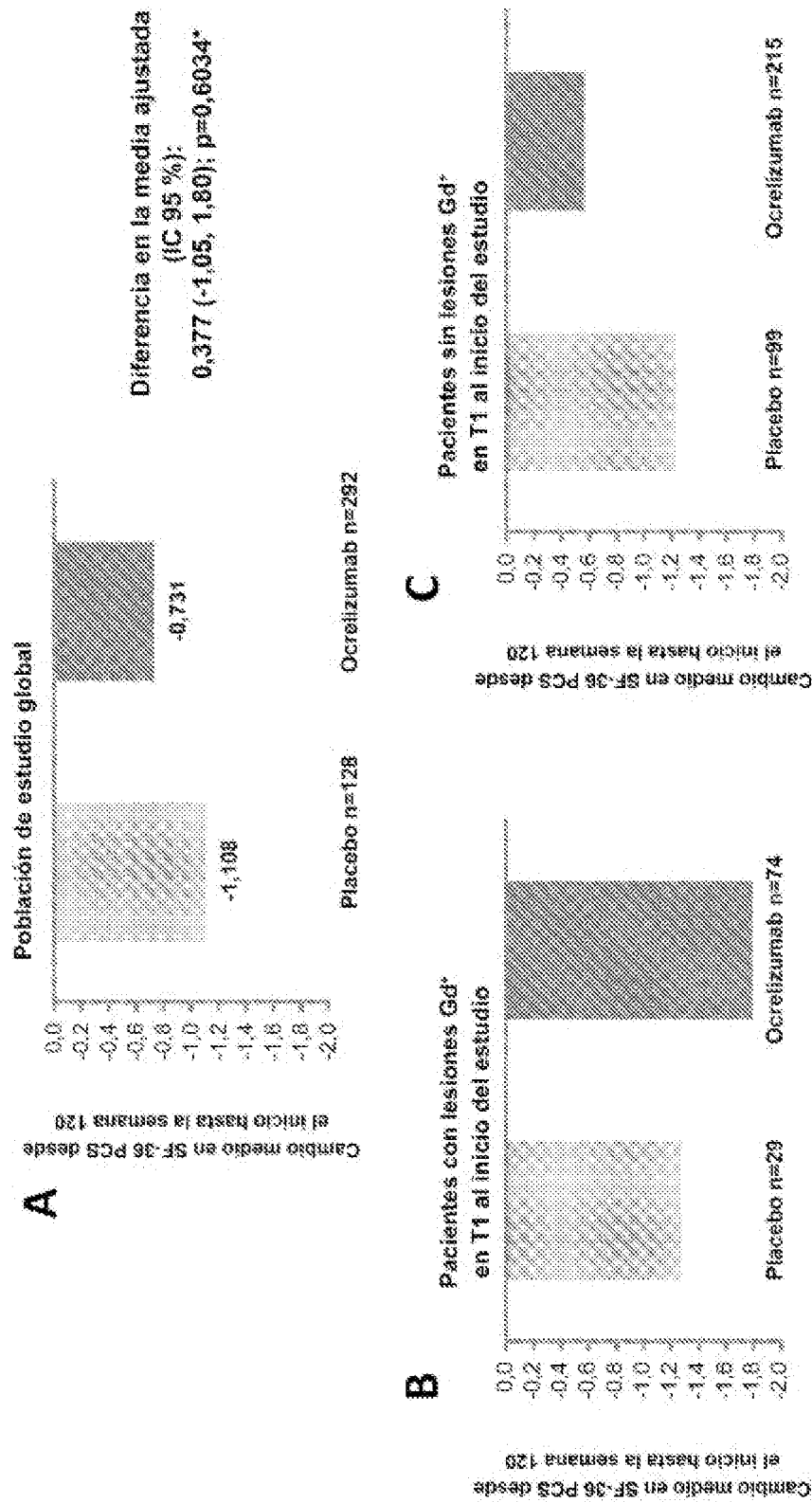
ITN. Las estimaciones son del análisis basado en un modelo de efecto mixto de medidas repetidas usando una matriz de covarianza no estructurada ajustada para la partición EDS de referencia (*continua sin repentes*) de una región geográfica (EE. UU. frente a ROW). EDS, escala ampliada del *estado de discapacidad*; ITN, *interferón*; ROW, *resto del mundo*.

FIG. 39



ITT. Las estimaciones son del análisis basado en un modelo de efecto fijo de medidas repetidas usando una matriz de covarianza ajustada para la puntuación EDSS de referencia (continua sin recortar) de una región geográfica (EE.UU. Rema a ROW). EDSS: escala ampliada del estado de discapacidad; IFN, interferón; ROW, resto del mundo.

FIG. 40



*IC, intervalo de confianza; Gd⁺, potenciada con gadolinio; MMPIA, modelo de efecto mixto de medidas repetidas; PCS, aumento de componente físico; SF-36, formulario breve (36).

CI, confidence interval; Gd⁺, gadolinium-enhancing; MMPIA, mixed-effect model of repeated measures.

PCS, physical component summary; SF-36, short form (36).

FIG. 41

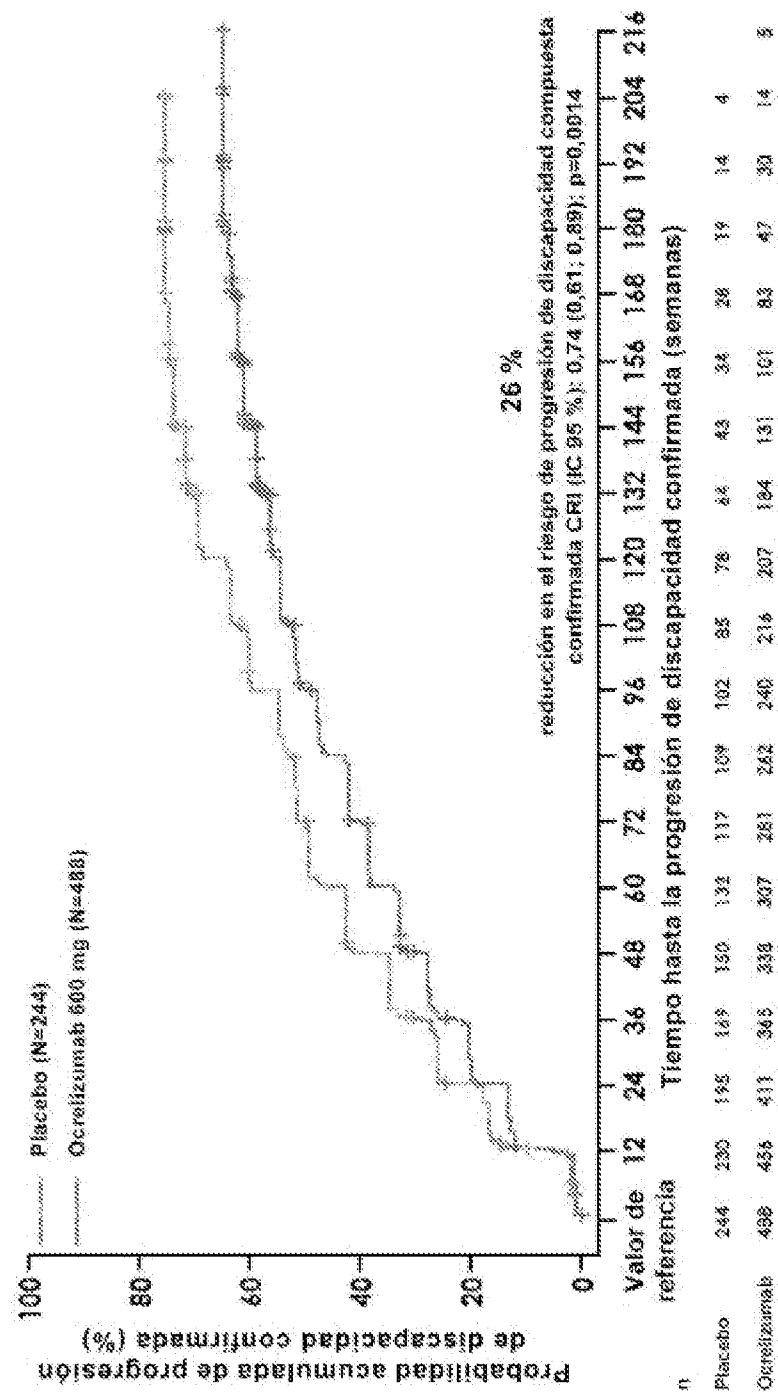


FIG. 42

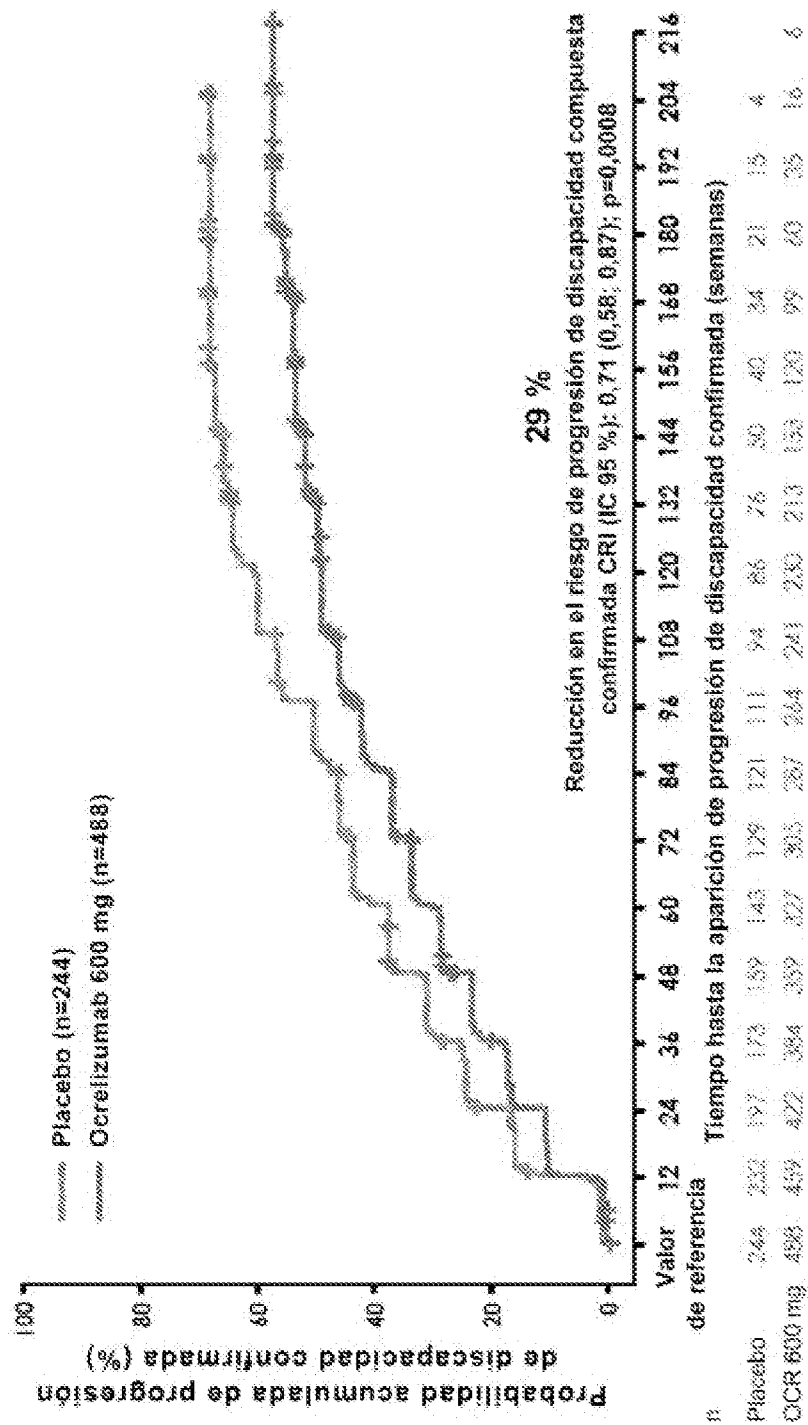
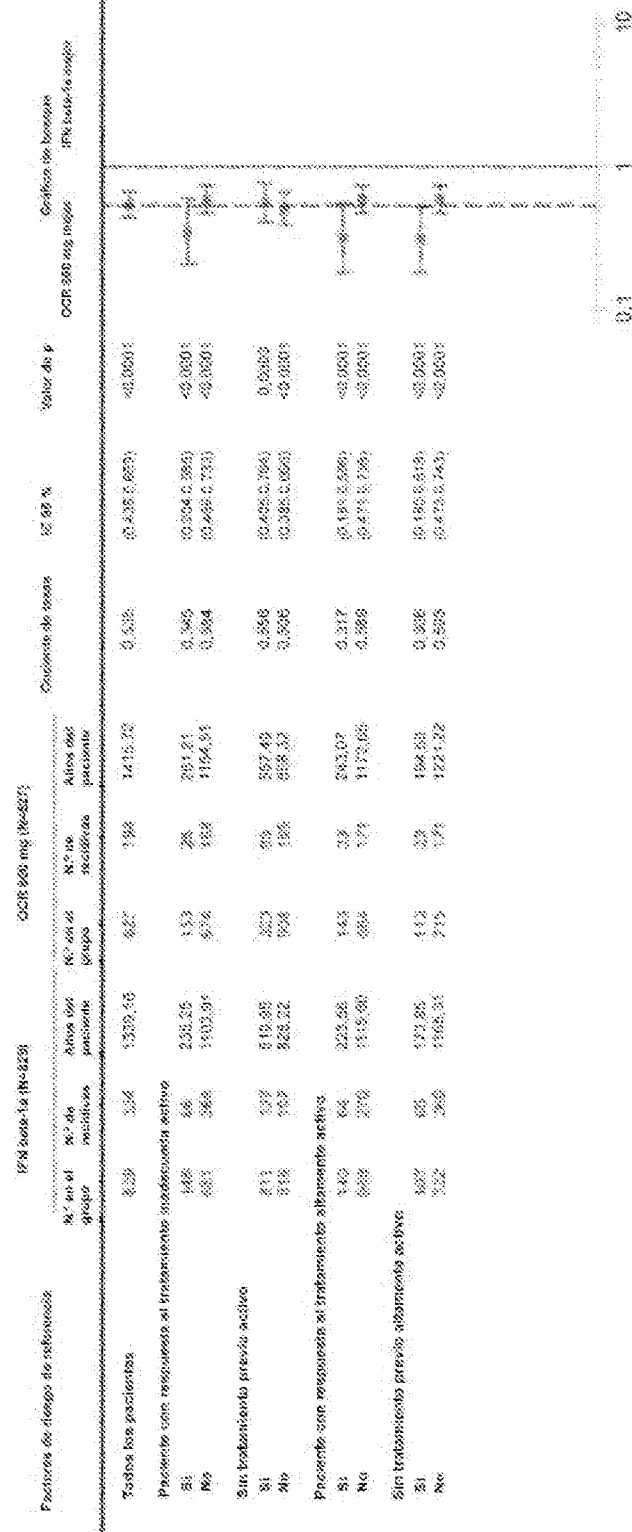


FIG. 43

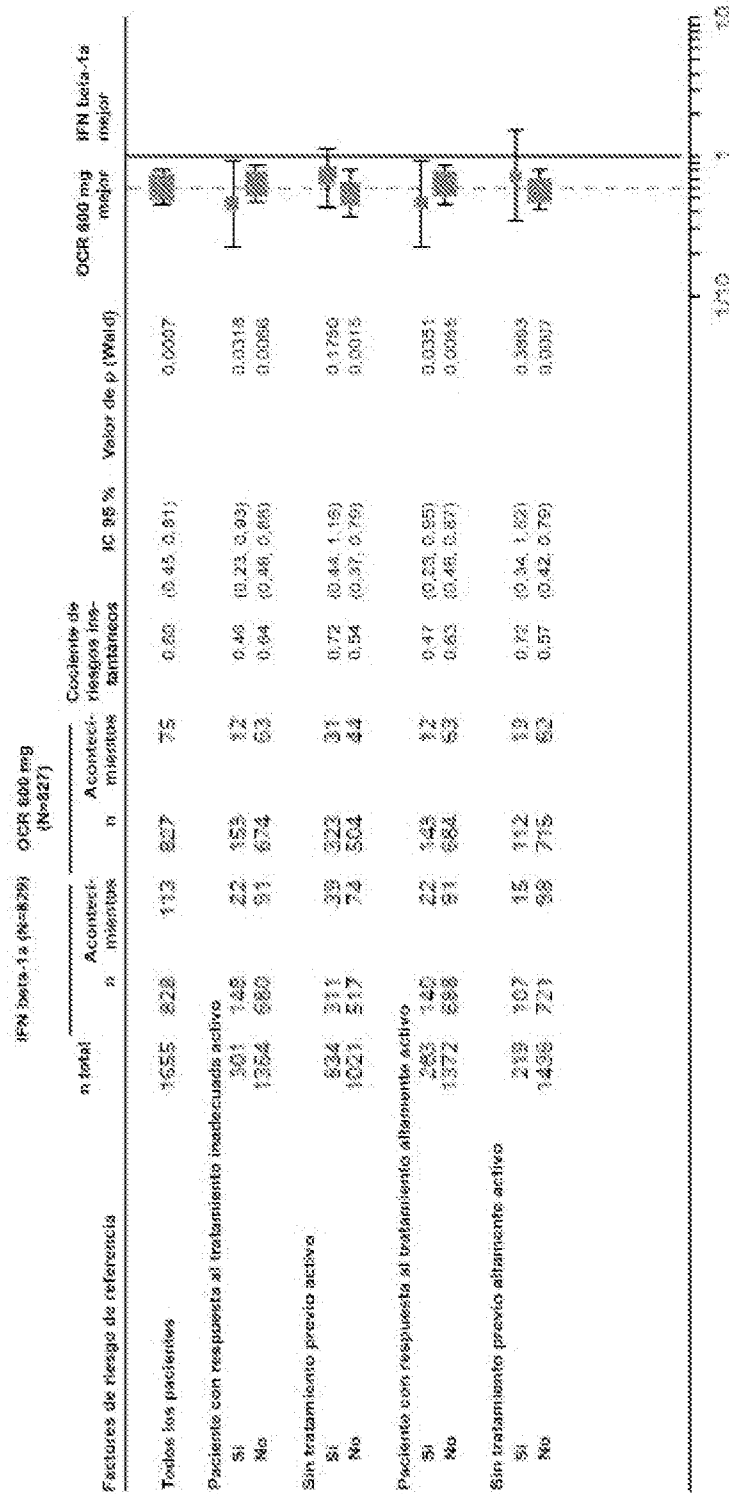
Tasa de recidiva definida por protocolo anualizada en la semana 96 (modelo binomial negativo) por subgrupos:
 Paciente con respuesta al tratamiento inadecuado y sin tratamiento previo,
 Población por intención de tratar
 Agrupados: WA21092 y WA21093



Ajustado por edad, sexo, región geográfica (EE. UU. frente a EE. UU.) y ECR de referencia (1-4.8 frente a 1-4.8).
 El tiempo de exposición transformado logaritmicamente se incluye como variable de confusión.
 Los valores de p no se han ajustado para tener en cuenta correlaciones de tratamientos múltiples.

FIG. 44

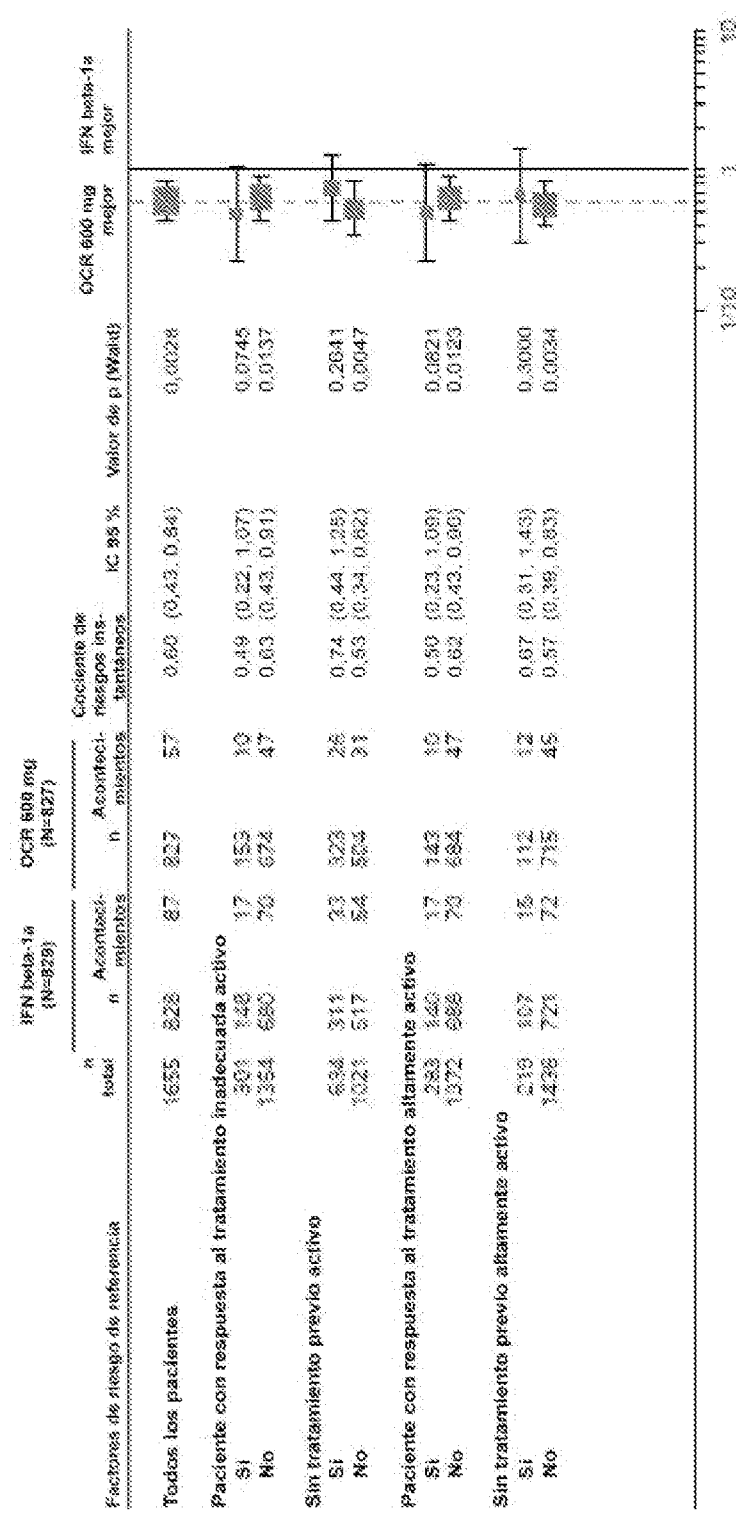
Tiempo hasta la aparición de COP durante al menos 12 semanas durante el periodo de tratamiento con doble enmascaramiento por subgrupos - Paciente con respuesta al tratamiento inadecuado y sin tratamiento previo, población por intención de tratar
Agrupados: WA21092 y WA21093



Estratificado por estudio, región geográfica (EE. UU. frente a ROW) y EDSS de referencia (<4,0 frente a >=4,0). Los valores de p no se han ajustado para tener en cuenta comparaciones de tratamientos múltiples.

FIG. 45

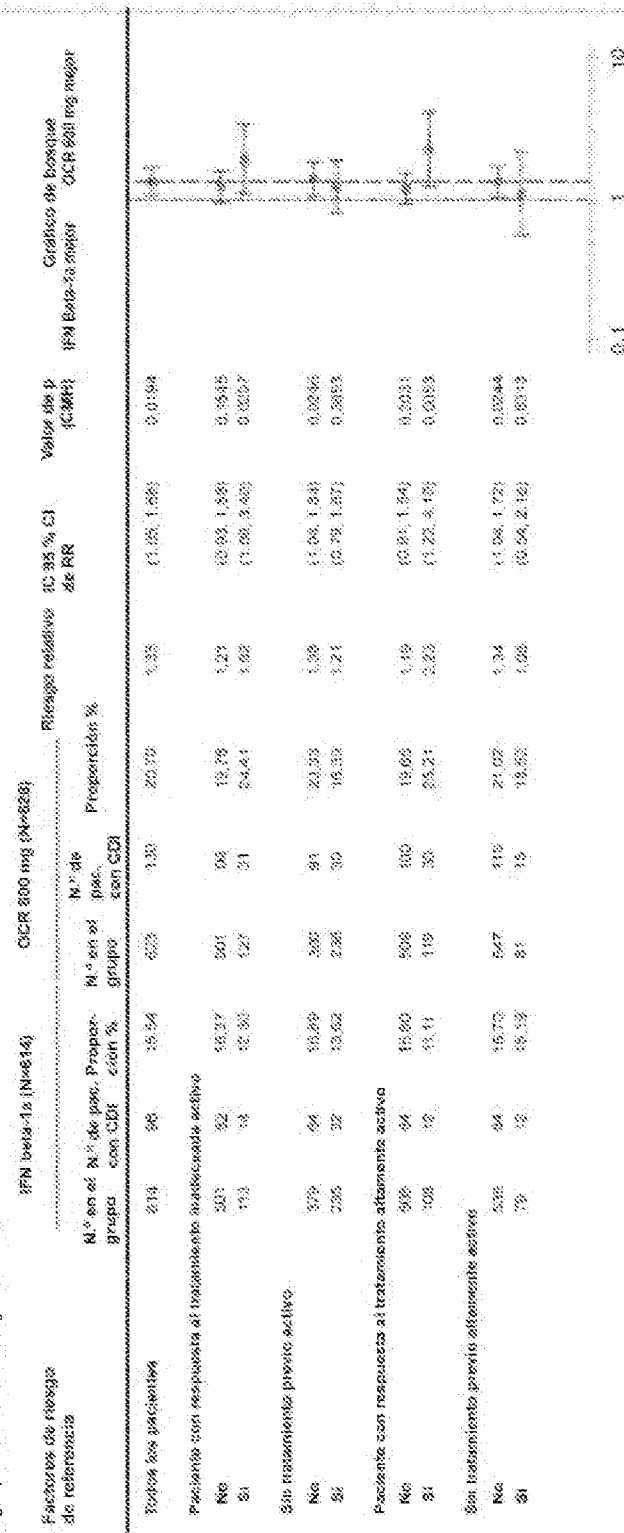
Tiempo hasta la aparición de CDP durante al menos 24 semanas durante el período de tratamiento con doble enmascaramiento por subgrupos - Paciente con respuesta al tratamiento inadecuado y sin tratamiento previo, población por intención de tratar Agrupados: WA21092 y WA21093



Estratificado por estudio, región geográfica (EE. UU. frente a ROW) y EDSS de referencia (<4.0 frente a ≥4.0). Los valores de p no se han ajustado para tener en cuenta comparaciones de tratamientos múltiples.

FIG. 46

Proporción de pacientes que tienen CBI durante al menos 12 semanas durante el periodo de tratamiento con doble enmascaramiento Pacientes con EDS3 de referencia ≥ 2.0 por subgrupos - Pacientes con respuesta al tratamiento inadecuada y sin tratamiento previo, población por intención de tratar
Agrupados: WA21082 y WA21083



CMH: prueba de la χ^2 de Cochran-Mantel-Haenszel.
Se calcularon IC 95 % de la proporción usando el procedimiento de Pearson-Chapman.
Estadístico por estrato: prueba propiética (IE, UCI, trend a RCM) y EDS3 de referencia (v4.0) hasta a v4.0.
Los pacientes con beta de EDS3 o sin confirmación de mejora de la capacidad de mejora de la capacidad de mejora que no tienen mejora de discapacidad confirmada.
Los valores de p se han ajustado para tener en cuenta comparaciones de tratamientos múltiples.

FIG. 47

Número total de lesiones potenciadas con gadolinio en T1 como se detecta por RMN cerebral en las visitas programadas durante el período de tratamiento con doble enmascaramiento por subgrupos. Paciente con respuesta al tratamiento inadecuado y sin tratamiento previo, población por intención de tratar
Agrupados: VIA.21052 y VIA.21093

Factores de riesgo de referencia	IFN beta-1a (N=829)				OCR 600 mg (N=827)				Cochrane de bases de datos	IC 95 %	valor de p	OCR 600 mg mejor	Gráfico de bosque
	N.º en el grupo	N.º de lesiones RMN	N.º de pacientes	N.º de lesiones RMN	N.º en el grupo	N.º de lesiones RMN	N.º de pacientes	N.º de lesiones RMN					
Todas las pacientes	520	832	260	260	520	832	260	260	0.056	(0.037, 0.082)	<0.0001	0.1	0.1
Paciente con respuesta al tratamiento inadecuado activo													
SI	148	179	280	280	153	4	416	416	0.021	(0.007, 0.060)	<0.0001	1--0.0001	1--0.0001
NO	283	653	330	330	367	38	330	330	0.064	(0.047, 0.083)	<0.0001	0.1	0.1
Sin tratamiento previo activo													
SI	313	324	260	260	313	20	260	260	0.056	(0.037, 0.082)	<0.0001	0.1	0.1
NO	206	508	340	340	207	30	340	340	0.048	(0.028, 0.078)	<0.0001	0.1	0.1
Paciente con respuesta al tratamiento adecuado activo													
SI	182	163	280	280	169	4	280	280	0.032	(0.007, 0.060)	<0.0001	1--0.0001	1--0.0001
NO	338	669	340	340	351	38	340	340	0.041	(0.040, 0.044)	<0.0001	0.1	0.1
Sin tratamiento previo adecuado activo													
SI	167	220	270	270	162	13	270	270	0.057	(0.033, 0.080)	<0.0001	0.1	0.1
NO	353	619	330	330	357	25	330	330	0.046	(0.037, 0.079)	<0.0001	0.1	0.1

Modelo binomial logístico ajustado por edad, sexo, lesión (SI en T1 de referencia [presente a no], EPOSS de referencia [4,6 frente a 4,0]) y región geográfica (EE. UU. frente a EE. UU.).
El número transformado logaritmicamente de RMN cerebrales se incluye como variable de comparación.
Los valores de p se han ajustado para tener en cuenta comparaciones de tratamientos múltiples.