

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 630**

51 Int. Cl.:

**A61K 39/395** (2006.01)

**C07K 16/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07786693 .7**

96 Fecha de presentación: **17.08.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2056874**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **13.05.2009**

54 Título: **Terapia antitumoral con anticuerpos anti-VEGF**

30 Prioridad:

**21.08.2006 EP 06017330**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

**12.12.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

**12.12.2012**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)  
GRENZACHERSTRASSE, 124  
4070 BASEL, CH**

72 Inventor/es:

**FRIESS, THOMAS;  
HASMANN, MAX y  
SCHEUER, WERNER**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 392 630 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

Terapia antitumoral con anticuerpos anti-VEGF

- 5 La presente invención se refiere al tratamiento de un paciente que sufra una recaída en un cáncer positivo de HER2 con un anticuerpo anti-VEGF durante o después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.

Antecedentes de la invención

- 10 La angiogénesis interviene en la patogénesis de un gran número de trastornos, que incluyen los tumores sólidos, los síndromes neovasculares intraoculares, por ejemplo las retinopatías proliferativas o la degeneración macular propia de la vejez (AMD), la artritis reumatoide y la psoriasis (Folkman y col., J. Biol. Chem. 267, 10931-10934, 1992; Klagsbrun y col., Annu. Rev. Physiol. 53, 217-239, 1991; y Garner, A., Vascular diseases, en: Pathobiology of ocular disease, A dynamic approach, Garner, A. y Klintworth, G.K. (coord.), 2ª edición, Marcel Dekker, Nueva York (1994), pp. 1625-1710). En el caso de los tumores sólidos, la neovascularización permite que las células tumorales adquieran una ventaja de crecimiento y autonomía proliferativa con respecto a las células normales. Por consiguiente se ha observado una correlación entre la densidad de los microvasos de las secciones tumorales y la supervivencia del paciente de cáncer de mama y también de otros tumores diversos (Weidner y col., N. Engl. J. Med. 324, 1-8, 1991; Horak y col., Lancet 340, 1120-1124, 1992; y Macchiarini y col., Lancet 340, 145-146, 1992).

- 20 El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) interviene en la regulación de la angiogénesis y neovascularización normales y anormales asociadas a los tumores y trastornos intraoculares (Ferrara y col., Endocr. Rev. 18, 4-25, 1997; Berkman y col., J. Clin. Invest. 91, 153-159, 1993; Brown y col., Human Pathol. 26, 86-91, 1995; Brown y col., Cancer Res. 53, 4727-4735, 1993; Mattern y col., Brit. J. Cancer 73, 931-934, 1996; y Dvorak y col., Am. J. Pathol. 146, 1029-1039, 1995). Los anticuerpos neutralizadores anti-VEGF suprimen el crecimiento de un gran número de líneas celulares tumorales humanas en ratones (Kim y col., Nature 362, 841-844, 1993; Warren y col., J. Clin. Invest. 95, 1789-1797, 1995; Borgstrom y col., Cancer Res. 56, 4032-4039, 1996; y Melnyk y col., Cancer Res. 56, 921-924, 1996). Los documentos WO 94/10202, WO 98/45332, WO 2005/00900 y WO 00/35956 se refieren a anticuerpos contra el VEGF. El anticuerpo monoclonal humanizado bevacizumab (comercializado con el nombre de Avastin®) es un anticuerpo anti-VEGF empleado en la terapia antitumoral y es el único agente antiangiogénico aprobado para el tratamiento del cáncer (WO 98/45331).

- 35 El HER2 es un miembro del grupo de receptores del factor de crecimiento epidérmico humano y posee actividad de proteína-quinasa en su dominio citoplasmático. El HER2 se sobreexpresa en las células tumorales y guarda relación con un pronóstico y supervivencia desfavorable (pobre). Por consiguiente, el HER2 es una diana valiosa de la terapia contra el cáncer de mama. Los anticuerpos contra el HER2 ya son conocidos por Takai, N. y col., Cancer 104, 2701-2708, 2005; Yeon, C.H., y col., Invest. New Drugs 23, 391-409, 2005; Wong, W.M., y col., Cancer Pract. 7, 48-50, 1999; Albanell, J. y col., Drugs Today (Barc.) 35, 931-46, 1999.

- 40 El trastuzumab (que se suministra con el nombre comercial de Herceptin®) es un anticuerpo monoclonal anti-HER2 humanizado recombinante empleado para el tratamiento del cáncer de mama metastásico sobreexpresado por HER2 / amplificado por el gen HER2. Los estudios preclínicos han demostrado que el anticuerpo tiene actividad antitumoral "in vivo" e "in vitro". Además se ha observado una intensificación acumulada o sinérgica de la actividad antitumoral del trastuzumab en combinación con varios agentes antitumorales en modelos murinos. En los estudios clínicos se ha observado prolongación de la supervivencia en pacientes de cáncer de mama metastásico con sobreexpresión del HER2.

- 45 En el documento WO 2005/012531 se describen anticuerpos que pueden combinarse con anticuerpos anti-ErbB (p.ej. la Herceptin® también conocida como trastuzumab) y/o un anticuerpo anti-VEGF (p.ej. la Avastin® también conocida como bevacizumab) para el tratamiento de cáncer colorrectal, cáncer de mama metastásico y cáncer de riñón. Según el documento WO 2005/063816, los anticuerpos anti-VEGF pueden combinarse con anticuerpos anti-ErbB para el tratamiento de cáncer de mama metastásico. Según WO 98/45331, la eficacia de un anticuerpo anti-VEGF para prevenir o tratar la enfermedad puede mejorarse administrando el anticuerpo en serie o en combinación con otro agente que sea eficaz para esta finalidad, por ejemplo un anticuerpo capaz de unirse al receptor HER2. En los documentos WO 2005/00090 y WO 2003/077841 se describe la combinación de anticuerpos anti-VEGF con anticuerpos anti-ErbB2 para la terapia antitumoral. Pegram, M.D. y col., Seminars in Oncology 29, 29-37, 2002, describen la combinación de anticuerpos anti-ErbB2 con los anticuerpos anti-VEGF para la terapia contra el cáncer de mama.

- 60 Los oncólogos clínicos están de acuerdo en que el fallo del tratamiento contra el cáncer no necesariamente se debe al crecimiento del tumor primario, que habitualmente se trata con una intervención quirúrgica, sino que se debe principalmente a la propagación metastásica hacia diferentes órganos. La regresión de los tumores primarios con diferentes fármacos citotóxicos no siempre es indicativa de actividad antimetastásica de por sí. Al contrario, se ha observado una metástasis intensificada como respuesta a varios fármacos anticancerosos (Geldof y col., Anticancer Res. 8, 1335-40, 1988; Murphy, J., Clin. Oncol. 11, 199-201, 1993 y De Larco y col., Cancer Res. 61, 2857-61,

2001). Está claro, pues, que existe la necesidad de desarrollar terapias de tratamiento dirigidas no solo contra el tumor primario, sino que además supriman la metástasis.

Estas actividades anti-metastásicas pueden evaluarse p.ej. con el método de Schneider, T. y col., Clin. Exp. Metas. 19, 571-582, 2002.

Resumen de la invención

La invención se define en la reivindicación 1.

Otra forma de ejecución se describe en la reivindicación 8.

Dicho anticuerpo anti-VEGF se une con preferencia al mismo epítipo que el bevacizumab. Dicho anticuerpo anti-VEGF es con preferencia el bevacizumab.

Dicho anticuerpo anti-HER2 es con preferencia el trastuzumab.

En una forma preferida de ejecución, la invención consiste en co-administrar dicho anticuerpo anti-VEGF y dicho anticuerpo anti-HER2 al paciente.

Descripción detallada de la invención

El término "VEGF" según la invención indica el factor de crecimiento celular endotelial vascular (Swiss-Prot. nº P 15692), las formas alternativas de empalme (véase p.ej. Leung y col., Science 246, 1306-1309, (1989) y Houck y col., Mol. Endocrin. 5, 1806-14 (1991) y los fragmentos activos, con preferencia los fragmentos N-terminales del mismo.

El término "anticuerpo anti-VEGF" según la invención indica un anticuerpo que se une específicamente al VEGF y despliega actividad antiangiogénica. El anticuerpo anti-VEGF humanizado preferido o la presente variante de anticuerpo anti-VEGF se une al VEGF humano con un valor Kd no superior a  $1 \times 10^{-8}$  M y con preferencia no superior a  $5 \times 10^{-9}$  M.

El anticuerpo anti-VEGF es con preferencia un anticuerpo monoclonal que se une al mismo epítipo que el anticuerpo monoclonal anti-VEGF humanizado recombinante (bevacizumab) generado según Presta y col., Cancer Res. 57, 4593-4599, 1997. Un anticuerpo preferido es el bevacizumab. Los anticuerpos anti-VEGF y sus métodos de obtención se han descrito p.ej. en US 6,054,297, US 2003/0190317, US 6,632,926, US 6,884,879 y US 2005/0112126.

El bevacizumab contiene regiones estructurales mutadas de la IgG1 humana y regiones determinantes de complementariedad que se unen al antígeno de un anticuerpo monoclonal murino anti-hVEGF que bloquea la unión del VEGF humano con sus receptores. Aproximadamente el 93% de la secuencia de aminoácidos del bevacizumab, incluida la mayor parte de las regiones estructurales, se deriva de la IgG1 humana y aprox. el 7% de la secuencia se deriva del anticuerpo murino A4.6.1. El bevacizumab tiene un peso molecular aproximado de 149.000 daltones y está glicosilado. El bevacizumab y su método de obtención se han descrito en EP 1325932.

El término "HER2" según la invención indica el receptor del factor de crecimiento de 185 kDa también llamado "neu" y c-erbB-2 (Slamon y col., Science 235, 177-182, 1987; Swiss-Prot. P04626), cuya función guarda relación con la transformación neoplásica en células de cáncer de mama humano. La sobreexpresión de esta proteína se ha identificado en el 20-30% de pacientes de cáncer de mama, en los que guarda relación con la enfermedad regionalmente avanzada, una mayor probabilidad de recurrencia tumoral y una reducción de la supervivencia del paciente. Aprox. un 30-40% de los pacientes que sufren cáncer gástrico, de endometrio, de glándulas salivares, de pulmón de células no pequeñas, de páncreas, de ovarios, de peritoneo, de próstata o cáncer colorrectal puede presentar también una sobreexpresión de esta proteína.

El término "anticuerpo anti-HER2" según la invención indica un anticuerpo que se une específicamente al mismo epítipo de HER2 que el del anticuerpo murino anti-HER2 4D5 descrito por Hudziak y col., Mol. Cell. Biol. 9, 1165-1172, 1989. Los anticuerpos anti-HER2 que se une al "epítipo 4D5 de HER2", incluido el anticuerpo anti-HER2 4D5 propiamente dicho, y los métodos para su obtención se han descrito p.ej. en US 6,054,297, WO 89/06692, US 6,399,063, US 6,165,464, US 6,054,297, US 5,772,997, WO 2003/087131, WO 01/00245, WO 01/00238, WO 00/69460, WO 99/31140 y WO 98/17797. En una forma preferida de ejecución de la invención, el anticuerpo anti-HER2 es el trastuzumab, un anticuerpo monoclonal anti-HER2 humanizado recombinante (una versión humanizada del anticuerpo murino anti-HER2 4D5, también llamado rhuMAb HER2 o trastuzumab), que ha demostrado ser activo en pruebas clínicas realizadas en pacientes con cáncer de mama metastásico, en el que se sobreexpresa el HER2, que previamente se habían tratado con una amplia terapia anticancerosa (Baselga y col., J. Clin. Oncol. 14, 737-744, 1996). El trastuzumab y su método de obtención se han descrito en EP 590058.

El "epítipo 4D5" es la región del dominio extracelular del ErbB2 a la que se une el anticuerpo 4D5 (ATCC CRL

10463). Este epítoto se halla muy próximo a la región transmembrana del ErbB2. Para explorar en busca de anticuerpos que se unan al epítoto 4D5 puede llevarse a cabo un ensayo rutinario de bloqueo cruzado, que se ha descrito en el manual *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, coord. Harlow y David Lane (1988). Como alternativa, puede realizarse el mapeo de epítotos para evaluar si el anticuerpo se une al epítoto 4D5 del ErbB2.

El término "epítoto" se emplea en esta descripción para indicar una proteína determinante capaz de unirse específicamente a un anticuerpo. Los epítotos están formados normalmente por agrupaciones de moléculas de superficie químicamente activas, por ejemplo aminoácidos o cadenas laterales azúcar y que habitualmente que tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítotos conformacionales y no conformacionales se distinguen porque la unión con los primeros pero no con los últimos se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes. Según sea el tamaño del antígeno, al que pertenece el epítoto, podrá disponerse de más de un epítoto por antígeno, lo cual es probable que se traduzca en la posibilidad de que haya más de un sitio de unión para el anticuerpo (= epítoto) por antígeno.

Los anticuerpos pueden generarse para que se dirijan p.ej. contra polipéptidos humanos, de ratones o de ratas. La invención abarca a los anticuerpos, ya sean policlonales, ya sean monoclonales, que reconocen específicamente al antígeno diana. Dichos anticuerpos se cultivan aplicando técnicas inmunológicas estándar, que los expertos ya conocen. Los anticuerpos pueden ser policlonales o monoclonales o pueden producirse por técnicas recombinantes, por ejemplo las empleadas para los anticuerpos humanizados. La determinación de si un anticuerpo no se une al mismo epítoto que un anticuerpo terapéutico ya conocido puede realizarse fácilmente en un sistema de ensayo competitivo.

El posible solapamiento de epítotos de dos anticuerpos, que se unen al mismo antígeno diana, puede detectarse mediante un sistema de ensayo competitivo. A tal se comprueba, por ejemplo, mediante un inmunoensayo enzimático hasta qué punto el nuevo anticuerpo compite con el anticuerpo ya conocido en el momento de ocupar (unirse a) un antígeno diana inmovilizado. A tal fin se incuban un antígeno diana inmovilizado de modo apropiado con el anticuerpo conocido en forma marcada y con un exceso del anticuerpo en cuestión. Cuando se detecta el marcador unido se puede evaluar fácilmente hasta qué punto el anticuerpo en cuestión puede desplazar al anticuerpo conocido del lugar de la unión (= epítoto). Si el desplazamiento es superior al 10 %, con preferencia superior al 20 %, para la misma concentración o para concentraciones superiores, con preferencia en el caso de un exceso de  $10^5$  veces el anticuerpo en cuestión, con respecto al anticuerpo conocido, entonces existe un solapamiento de epítotos. Esto significa que el anticuerpo en cuestión se une al mismo epítoto que el anticuerpo conocido.

El término "antígeno diana" indica una biomolécula que está unida a su correspondiente anticuerpo terapéutico. Por ejemplo, el antígeno diana de un anticuerpo terapéutico dirigido contra el HER2 (= ErbB2 o p185<sup>neu</sup>), por ejemplo la Herceptin<sup>®</sup> o el Omnitarg<sup>®</sup>, es el HER2, de un anticuerpo terapéutico dirigido contra el EGFr, por ejemplo el Eribix<sup>®</sup>, es el EGFr, de un anticuerpo terapéutico dirigido contra el VEGF, por ejemplo la Avastin<sup>®</sup>, es el VEGF. El antígeno diana puede ser soluble, es decir, secretado o vertido (derramado), o puede estar unido a una membrana (celular).

Los expertos conocen perfectamente los inmunoensayos. Los métodos para realizar tales ensayos así como las aplicaciones prácticas y procedimientos se resumen en los manuales correspondientes. Son ejemplos de tales manuales: Tijssen, P., *Preparation of enzyme-antibody or other enzyme-macromolecule conjugates*, en: *Practice and theory of enzyme immunoassays*, Burdon, R.H. y v. Knippenberg, P.H. (coords.), Elsevier, Amsterdam (1990), pp. 221-278; y varios volúmenes de Colowick, S.P. y Caplan, N.O. (coords.), *Methods in Enzymology*, Academic Press, dedicados a métodos de detección inmunológica, en especial los volúmenes 70, 73, 74, 84, 92 y 121.

El término "sobrexpresión" de la proteína del receptor HER2 se emplea para indicar un nivel anormal de expresión de la proteína del receptor HER2 en una célula de un tumor dentro de un tejido u órgano específicos de un paciente con respecto al nivel de expresión en una célula normal de dicho tejido u órgano. Los pacientes que tienen un cáncer caracterizado por la sobreexpresión del receptor HER2 pueden determinarse por ensayos estándar ya conocidos de la técnica. La sobreexpresión se determina con preferencia en células fijadas de secciones de tejido congelado o sumergido en parafina, realizando una detección inmunohistoquímica (IHC). Cuando se combina con la tinción histológica se puede determinar la localización de la proteína diana y medirse su grado de expresión dentro de un tumor, de modo no solo cualitativo sino también semicuantitativo. Dichos ensayos de detección IHC ya son conocidos en la técnica e incluyen el llamado Clinical Trial Assay (CTA), el ensayo comercial llamado LabCorp 405 y el ensayo comercial llamado OAKO HercepTest<sup>®</sup> (OAKO, Carpinteria, Calif.). En el último ensayo se emplea un intervalo específico de tinción de células de 0 a 3+ (0 indica una expresión normal, 3+ indica la expresión positiva más fuerte) para identificar los tipos de cáncer que tienen sobreexpresión de la proteína HER2 (véase la información completa de prescripción de la Herceptin<sup>®</sup> (trastuzumab); setiembre de 1998; Genentech, Inc., San Francisco, Calif.). Por consiguiente, los pacientes que tienen un cáncer caracterizado por la sobreexpresión de la proteína HER2 en el intervalo de 1+, 2+ ó 3+, con preferencia 2+ ó 3+, con mayor preferencia 3+, podrán sacar provecho de los métodos de terapia de la presente invención.

El término “cáncer positivo de HER2” indica una enfermedad cancerosa de tipo cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer de endometrio, cáncer de glándulas salivares, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de páncreas, cáncer de ovarios, cáncer peritoneal, cáncer de próstata o cáncer colorrectal, que se caracteriza por una sobreexpresión de la proteína HER2. Según la invención, el cáncer es un cáncer de mama positivo de HER2 recidivante, que se trata con preferencia con arreglo a o después de una monoterapia de primera línea con un anticuerpo anti-HER2, dicho anticuerpo anti-HER2 es con preferencia el trastuzumab.

El término “cáncer de mama” indica el crecimiento incontrolado de células de mama anormales. Incluye al carcinoma ductal “in situ”, el carcinoma ductal invasivo, el carcinoma lobular “in situ”, el carcinoma lobular invasivo, el carcinoma medular, la enfermedad de Paget del pezón (papila mamaria) y cáncer de mama metastásico.

El término “cáncer recidivante” indica el crecimiento incontrolado de células anormales en pacientes aquejados por un tumor, que inicialmente respondía a la terapia previa, pero en el que la respuesta terapéutica no se ha mantenido. El término “cáncer recidivante positivo de HER2” indica el crecimiento incontrolado de células anormales, caracterizado por la sobreexpresión de la proteína HER2 en aquejados por un tumor, que inicialmente respondía a la terapia previa con un anticuerpo anti-HER2, con preferencia el trastuzumab, pero en el que la respuesta terapéutica no se ha mantenido durante el tratamiento con dicho anticuerpo anti-HER2. Los pacientes aquejados por un tumor que inicialmente respondían a la terapia previa con un anticuerpo anti-HER2, con preferencia el trastuzumab, pero en los que la respuesta terapéutica no se ha mantenido se denominan “recidivos”.

La respuesta terapéutica (RE) se establece en base al criterio médico del facultativo que dispone de los resultados clínicos y de laboratorio, que se emplean en general como ya es conocido en la técnica para evaluar el tratamiento del paciente. Dichos datos pueden obtenerse, por ejemplo, a partir de un examen clínico, de técnicas citológicas e histológicas, de endoscopia y laparoscopia, ultrasonidos, escaneos CT y MRI, radiografías de tórax y mamografías, y medición de la concentración de los marcadores tumorales, por ejemplo el CEA, Cyfra, CA15-3, interleucina 8 y HER2 soluble. Para determinar la respuesta tumoral (RE) pueden utilizarse con preferencia los criterios RECIST (Therasse y col., J. Nat. Cancer Institute 92, 205-216, 2000).

Según estos criterios RECIST, la respuesta tumoral en tumores sólidos (Therasse y col., J. Nat. Cancer Institute 92, 205-216, 2000) se divide en categorías según la progresión o regresión del volumen de los tumores (medidas p.ej. por CT), a saber en cuatro niveles: respuesta completa (CR) o respuesta parcial (PR), enfermedad estable (SO) y enfermedad progresiva (PO) (ver tabla 1). Además, la Organización Europea de Investigación y Tratamiento del Cáncer (European Organization for Research and Treatment of Cancer, = EORTC) ha propuesto la división en categorías, a saber, en cuatro niveles, en función del metabolismo de los tumores medido por tomografía de emisión de positrones de la 2-[F<sup>18</sup>]-fluor-2-desoxiglucosa (FOG-PET) (Young, H. y col., Eur. J. Canc. 35, 1773-1782, 1999 y Kellof, G.J. y col., Clin. Canc. Res. 11, 2785-2808, 2005): respuesta metabólica completa (CMR), respuesta metabólica parcial (PMR), enfermedad metabólica estable (SMO) y enfermedad metabólica progresiva (PMO) (véase la tabla 2).

Tabla 1: criterios CT (según RECIST)

medición CT: cambio en las sumas de los diámetros más largos	RECIST
desaparición; confirmada a las 4 semanas (del inicio del tratamiento)	CR
disminución del 30 %; confirmada a las 4 semanas	PR
no se cumplen los criterios PR ni PD	SD
aumento del 20 %; no se documentan la CR, PR ni SD antes del aumento de la enfermedad	PD

Tabla 2: criterios FDG-PET propuestos (según EORTC, véase Young, H. y col., Eur. J. Canc. 35, 1773-1782, 1999)

medición PET	criterios FDG-PET propuestos
resolución completa de la 2-[F <sup>18</sup> ]-fluor-2-desoxiglucosa (FDG) absorbida en el tumor	CMR
reducción como mínimo del 15-25% del valor de absorción estándar (SUV) después de un ciclo de tratamiento y de >25% después de más de un ciclo de tratamiento	PMR
aumento del valor de absorción estándar (SUV) <25% o disminución del SUV <15%; sin aumento visible del grado de absorción de la FDG en el tumor (>20% de la dimensión mayor)	SMD
aumento del SUV >25%; aumento visible de la absorción de la FDG en el tumor (>20% de la dimensión mayor); aparición de nueva absorción de la FDG en lesiones metastásicas	PMD

Por lo tanto, “respuesta (RE)” y “no respuesta (NR)” se establecen con preferencia muy especial según esta invención en base a los datos adquiridos por la combinación de la tomografía computerizada (CT) y la tomografía de emisión de positrones de la 2-[F<sup>18</sup>]-fluor-2-desoxiglucosa (FOG-PET) (Kellof, G.J. y col., Clin. Canc. Res. 11, 2785-2808, 2005 y Young, H. y col., Eur. J. Canc. 35, 1773-1782, 1999) aplicando no solo los criterios RECIST sino también los FOG-PET recién descritos. Por consiguiente, la respuesta (RE) y la no respuesta (NR) se determinan según esta invención del modo siguiente:

Respuesta (RE): la CR o la PR se establecen por criterios CT-RECIST (tabla 1) y al mismo tiempo la CMR o la PMR se establecen mediante FOG-PET (tabla 2). Por lo tanto, respuesta (RE) significa uno de los cuatro casos siguientes para las mediciones combinadas de CT y PET: CR y CMR; PR y PMR; CR y PMR; y PR y CMR.

5 No respuesta (NR): se establecen la SD o la PD por criterios CT-RECIST (tabla 1) y al mismo tiempo la SMD o la PMD se establecen mediante FOG-PET (tabla 2). Por lo tanto, cuatro casos siguientes para las mediciones combinadas CT y PET significan no respuesta (NR): SD y SMD; SD y PMD; PD y SMD; y PD y PMD.

10 Normalmente la respuesta se determina al cabo aproximadamente de 3 a 8 semanas, con preferencia al cabo de 6 semanas, después del inicio del tratamiento. Esta determinación de la respuesta se repite normalmente a intervalos de 4 a 8 semanas, con preferencia de 6 a 8 semanas. Si en la primera determinación se obtiene una respuesta significativa (RE), entonces la recaída (es decir, la no respuesta (NR) después de la primera determinación) puede determinarse como más pronto en la segunda determinación de la respuesta. El tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF se inicia como más pronto después de la determinación de la recaída del cáncer de mama positivo de HER2. El tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF de una paciente que sufra la recaída en el cáncer de mama positivo de HER2 se iniciará con preferencia como más pronto al cabo de 12 semanas, con mayor preferencia al cabo de 15 semanas y con mayor preferencia todavía al cabo de 18 semanas, después del momento, en el que se había iniciado el tratamiento con dicho anticuerpo anti-HER2.

20 El término "paciente que sufre la recaída en el cáncer positivo de HER2" indica un paciente, en el que la respuesta (RE) se establece después de la primera determinación de respuesta, y en el que, en la segunda o posteriores determinaciones de respuesta, se establece la no respuesta (NR).

25 El término "paciente" se emplea en esta descripción con preferencia para indicar un ser humano que necesita un tratamiento contra el cáncer, o que sufre una lesión o un estado patológico precanceroso. Sin embargo, el término "paciente" puede indicar también animales no humanos, con preferencia mamíferos, por ejemplo perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, ovejas y primates no humanos, entre otros, que necesitan el tratamiento. El término "grupo" indica un grupo de pacientes o bien un subgrupo de pacientes.

30 La invención se refiere al uso de un anticuerpo anti-VEGF para la fabricación de un medicamento destinado a prevenir o reducir la metástasis de un paciente que sufre la recaída en un cáncer positivo de HER2, durante o después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.

35 Otro aspecto consiste en un anticuerpo anti-VEGF para prevenir o reducir la metástasis de un paciente que sufre la recaída en un cáncer de mama positivo de HER2 durante o después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2. El anticuerpo anti-VEGF es con preferencia el bevacizumab, que se administra con preferencia después de la monoterapia de primera línea con el trastuzumab.

40 En una forma preferida de ejecución, la invención se refiere al uso de un anticuerpo anti-VEGF para la fabricación de un medicamento destinado a prevenir o reducir la metástasis de un paciente que sufre la recaída en un cáncer positivo de HER2, durante el tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.

45 Esto se refiere al uso de un anticuerpo anti-VEGF para la fabricación de un medicamento para prevenir o reducir la metástasis de un paciente que sufre la recaída en un cáncer de mama positivo de HER2, que consiste en co-administrar dicho anticuerpo anti-VEGF y dicho anticuerpo anti-HER2 al paciente después de la recaída en el cáncer positivo de HER2.

50 Por lo tanto, dicho medicamento se administra con preferencia durante el tratamiento con dicho anticuerpo anti-HER2, y con preferencia después de la monoterapia de primera línea con dicho anticuerpo anti-HER2.

55 En una forma preferida de ejecución, la invención se refiere al uso de un anticuerpo anti-VEGF para la fabricación de un medicamento destinado a prevenir o reducir la metástasis de un paciente que sufre la recaída en el cáncer de mama positivo de HER2, después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.

Esto se refiere al uso de un anticuerpo anti-VEGF para la fabricación de un medicamento destinado a prevenir o reducir la metástasis de un paciente que sufre la recaída en el cáncer de mama positivo de HER2, que consiste en administrar dicho anticuerpo anti-VEGF solo al paciente después de recaída en el cáncer de positivo de HER2.

60 Por consiguiente, dicho medicamento se administra con preferencia después del tratamiento con dicho anticuerpo anti-HER2.

65 En una forma preferida de ejecución, la invención se refiere al uso de un anticuerpo anti-VEGF para la fabricación de un medicamento destinado a prevenir o reducir la metástasis de un paciente que sufre la recaída en el cáncer de mama positivo de HER2, después de la monoterapia de primera línea con un anticuerpo anti-HER2.

Por lo tanto, dicho medicamento se administra con preferencia después de la monoterapia de primera línea con dicho anticuerpo anti-HER2.

Dicho anticuerpo anti-VEGF se une con preferencia al mismo epítotope que el bevacizumab.

5

Con preferencia, dicho anticuerpo anti-VEGF es el bevacizumab.

Con preferencia, dicho anticuerpo anti-HER2 es el trastuzumab.

10 El término “terapia de primera línea” se emplea aquí para indicar el primer tipo de terapia farmacológica administrada para tratar el cáncer o la metástasis. Puede ser una quimioterapia o inmunoterapia de adyuvante o neoadyuvante, aplicada inicialmente después del diagnóstico y/o la cirugía. El término “quimioterapia o inmunoterapia de adyuvante” se emplea aquí para indicar un tratamiento después de la cirugía con la intención de prevenir la recaída en el cáncer, el término “quimioterapia o inmunoterapia de neoadyuvante” se emplea aquí para indicar un tratamiento aplicado antes de la cirugía con la idea de reducir el tamaño del tumor. El término “quimioterapia” se emplea aquí para indicar la quimioterapia contra el cáncer, que es el uso de sustancias químicas o bioquímicas, por ejemplo fármacos citotóxicos del tipo 5-fluoruracilo, o terapias dirigidas con anticuerpos monoclonales del tipo trastuzumab, o con otros inhibidores de quinasas, por ejemplo el erlotinib, para tratar el cáncer.

15

20 El término “monoterapia de primera línea” se emplea aquí para indicar la terapia de primera línea definida antes con una sola sustancia química o bioquímica (a diferencia del término “terapia de combinación de primera línea”, que indica una terapia de primera línea realizada con dos o más sustancias química o bioquímicas).

20

25 En una forma preferida de ejecución, la invención comprende la co-administración al paciente de dicho anticuerpo anti-VEGF y dicho anticuerpo anti-HER2.

25

El término “método de fabricación de un medicamento” indica la fabricación de un medicamento destinado a la indicación aquí especificada y en particular al tratamiento de tumores, metástasis de tumores o del cáncer en general.

30

El término “tratar”, a menos que se indique otra cosa, se emplea en esta solicitud para significar la inversión, el alivio o la inhibición del progreso de, o la prevención, ya sea parcial, ya sea completa, del crecimiento de los tumores, metástasis tumorales u otras células neoplásicas o causantes del cáncer en un paciente. El término “tratamiento” a menos que se indique otra cosa, se emplea en esta solicitud para significar el acto del tratamiento. La expresión “un método de tratamiento” o sus equivalentes, aplicada por ejemplo al cáncer, indica un procedimiento o curso de acción que se diseña para reducir o eliminar la cantidad de células cancerosas de un paciente, o para aliviar los síntomas de un cáncer. Un “método de tratamiento” del cáncer o de otro trastorno proliferativo no necesariamente significa que las células cancerosas u otro trastorno se vayan a eliminar de hecho, que se vaya a reducir de hecho el número de células o el trastorno ni que se vayan a aliviar de hecho los síntomas de un cáncer o de otro trastorno. A menudo un método de tratamiento del cáncer se lleva a la práctica incluso cuando tiene poca probabilidad de éxito, pero que, dada la historia médica y la esperanza de vida estimada del paciente, se cree a pesar de todo que tendrá un curso de acción beneficioso en su conjunto.

35

40

Es evidente que los anticuerpos se administran al paciente en una cantidad terapéuticamente eficaz, que es la cantidad del compuesto en cuestión o de una combinación del mismo, que producirá la respuesta médica o biológica de un tejido, sistema, animal o ser humano, deseada por el investigador, el veterinario, el doctor en medicina u por otros facultativos.

45

La cantidad de anticuerpo anti-VEGF administrado o de anticuerpo anti-VEGF y anticuerpo anti-HER2 co-administrados y el régimen de administración dependerá del tipo (especie, género, edad, peso, etc.), del estado general de salud del paciente tratado y de la severidad de la enfermedad o estado patológico a tratar. Se emplean normalmente las dosis típicas de anticuerpo anti-VEGF y anticuerpo anti-HER2, por ejemplo de bevacizumab y de trastuzumab. Por ejemplo, las dosis para la administración de los anticuerpos según la invención pueden situarse entre 1 µg/kg y 50 mg/kg (p.ej. 0,1-20 mg/kg) de anticuerpo en una administración, en varias administraciones separadas o en una infusión continua. Una dosis diaria típica puede situarse entre 1 µg/kg y 100 mg/kg. En un aspecto preferido, los anticuerpos se administran cada dos o tres semanas, en una dosis comprendida entre 1 mg/kg y 15 mg/kg. Una dosis preferida para el trastuzumab es una dosis de carga de 4 mg/kg administrada en forma de infusión continua y posteriormente 3 infusiones semanales de 2 mg/kg a 6 mg/kg, con preferencia de 2 mg/kg, administradas en forma de infusión continua hasta que se detecte el cese del progreso de la enfermedad. Una dosis preferida del bevacizumab se sitúa entre 5 mg/kg y 15 mg/kg, con preferencia entre 5 mg/kg y 10 mg/kg, y con mayor preferencia en torno a 5 mg/kg, una vez cada 14 días en forma de infusión intravenosa (i.v.).

50

55

60

El término “durante el tratamiento con un anticuerpo anti-HER2” se refiere a la “co-administración” del anticuerpo anti-VEGF que se administra además del anticuerpo anti-HER2. La “co-administración” significa que el anticuerpo anti-VEGF se administra además del anticuerpo anti-HER2 ya sea de modo simultáneo, ya sea de modo sucesivo. La co-administración puede ser simultánea o sucesiva en cualquier orden, pero existe con preferencia un período de

65

tiempo en el que los dos (o todos los) agentes activos ejercen de modo simultáneo sus actividades biológicas. Si los dos anticuerpos se administran simultáneamente, la dosis se administra el mismo día en una administración, p.ej. durante una infusión continua. Si los dos anticuerpos se administran sucesivamente, la dosis se administra durante el mismo día en dos administraciones separadas, p.ej. dos infusiones continuas separadas, o bien uno de los anticuerpos se administra el día 1 y el segundo anticuerpo se administra entre el día 2 y el 7, con preferencia entre el día 2 y el 4. Los términos “co-administración” o “co-administrar” referidos a las dosis de mantenimiento del anticuerpo anti-VEGF y el anticuerpo anti-HER2 indican que las dosis de mantenimiento pueden administrarse simultáneamente, p.ej. durante una infusión continua, si el ciclo de tratamiento es apropiado para ambos anticuerpos; o las dosis de mantenimiento se administrarán sucesivamente, ya sea dentro de uno o de varios días, p.ej. la dosis de mantenimiento del anticuerpo anti-HER2 se administra cada 3 semanas, y la dosis de mantenimiento del anticuerpo anti-VEGF se administra cada 2 semanas. Para los dos anticuerpos pueden aplicarse también otros ciclos de tratamiento, normalmente de 1 a 4 semanas, con preferencia de 2 a 3 semanas.

La expresión “después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2” indica la administración del anticuerpo anti-VEGF, que se administra después de interrumpir el tratamiento con el anticuerpo anti-HER2.

El medicamento puede ser útil para reducir la metástasis en un paciente de este tipo, para aumentar la duración de la supervivencia de semejante paciente, para aumentar la progresión de la supervivencia libre de semejante paciente, para aumentar la duración de la respuesta, que se traduce en una mejora significativa estadísticamente e importante clínicamente del paciente tratado en términos de duración de la supervivencia, progreso de la supervivencia libre, índice de respuesta o duración de la respuesta. El medicamento puede ser útil para mejorar el índice de respuesta de un grupo de pacientes.

En una forma preferida de ejecución, el medicamento es útil para reducir la metástasis en un paciente que sufra una recaída en el cáncer de mama positivo de HER2 durante el tratamiento con un anticuerpo anti-HER2 mediante la co-administración al paciente de dicho anticuerpo anti-VEGF, con preferencia el bevacizumab, y dicho anticuerpo anti-HER2, con preferencia el trastuzumab.

El término “metástasis” indica según la invención la transmisión de células cancerosas del tumor primario a uno o más sitios de otras partes del cuerpo del paciente. Ya se conocen en la técnica los métodos para determinar si un cáncer se ha metastasiado e incluyen el escaneo óseo, la radiografía de tórax, el escaneo CAT, el escaneo MRI y los ensayos con marcadores tumorales.

Las expresiones “medicamento para prevenir la metástasis” o “medicamento para reducir la metástasis” se emplean aquí para indicar el uso del medicamento como agente profiláctico contra la metástasis en un paciente que sufra la recaída en el cáncer positivo de HER2, con lo cual se inhibe o se reduce la ulterior transmisión de células cancerosas desde el tumor primario hasta uno o varios sitios de otras partes del cuerpo del paciente. Esto significa que se previene, se retrasa o se inhibe la metástasis del tumor o cáncer primario metastásico. Se previene o se reduce con preferencia la metástasis del hígado, lo cual significa que se previene o se reduce la transmisión metastásica de células cancerosas del tumor primario al hígado.

En el contexto de esta invención pueden utilizarse agentes citotóxicos, quimioterapéuticos o anticancerosos adicionales, o compuestos que intensifican los efectos de tales agentes para el tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o para el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF después del fallo de la terapia previa, con preferencia de la monoterapia previa de primera línea, con un anticuerpo anti-HER2 (es decir, en un paciente que sufra la recaída en el cáncer positivo de HER2 después del tratamiento con monoterapia de primera línea con trastuzumab). Se aplica con preferencia el tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF sin otros agentes citotóxicos, quimioterapéuticos o anticancerosos adicionales, ni compuestos que intensifiquen los efectos de dichos agentes.

Tales agentes incluyen, por ejemplo: agentes alquilantes o agentes de acción alquilante, por ejemplo la ciclofosfamida (CTX; p.ej. cytoxan<sup>®</sup>), clorambucilo (CHL; p.ej. leukeran<sup>®</sup>), cisplatino (CisP; p.ej. platino<sup>®</sup>) busulfan (p.ej. myleran<sup>®</sup>), melfalano, carmustina (BCNU), estreptozotocin, trietilenomelamina (TEM), mitomicina C y similares; los anti-metabolitos, por ejemplo el metotrexato (MTX), etoposido (VP16; p.ej. vepesid<sup>®</sup>), 6-mercaptopurina (6MP), 6-tioguanina (6TG), citarabina (Ara-C), 5-fluoruracilo (5-FU), capecitabina (p.ej. Xeloda<sup>®</sup>), dacarbazina (DTIC) y similares; los antibióticos, por ejemplo la actinomicina D, doxorubicina (DXR; p.ej. adriamicina<sup>®</sup>), daunorrubicina (daunomicina), bleomicina, mitramicina y similares; los alcaloides, por ejemplo los alcaloides de la vinca, tales como la vincristina (VCR), vinblastina y similares; y otros agentes antitumorales, por ejemplo el paclitaxel (p.ej. taxol<sup>®</sup>) y los derivados del paclitaxel, los agentes citostáticos, los glucocorticoides, por ejemplo la dexametasona (DEX; p.ej. decadron<sup>®</sup>) y los corticosteroides tales como la prednisona, los inhibidores de enzimas nucleósidas, por ejemplo la hidroxiaurea, las enzimas de reducción (desnaturalización) de aminoácidos, como es la asparaginasa, la leucovorina y otros derivados de ácido fólico y agentes antitumorales similares diversos. Los agentes siguientes pueden utilizarse también en calidad de agentes adicionales: la arnifostina (p.ej. ethyol<sup>®</sup>), dactinomicina, mecloretamina (mostaza

- nitrogenada), estreptozocina, ciclofosfamida, lomustina (CCNU), doxorubicina lipo (p.ej. doxil<sup>®</sup>), gemcitabina (p.ej. gemzar<sup>®</sup>), daunorrubicina lipo (p.ej. daunoxome<sup>®</sup>), procarbazona, mitomicina, docetaxel (p.ej. taxotere<sup>®</sup>), aldesleucina, carboplatino, oxaliplatino, cladribina, camptotecina, CPT 11 (irinotecan), 10-hidroxi-7-etil-camptotecina (SN38), floxuridina, fludarabina, ifosfamida, idarrubicina, mesna, interferón beta, interferón alfa, mitoxantrona, topotecan, leuprolida, megestrol, melfalano, mercaptopurina, plicamicina, mitotano, pegaspargasa, pentostatina, pipobromano, plicamicina, tamoxifeno, teniposido, testolactona, tioguanina, tiotepa, mostaza de uracilo, vinorelbina, clorambucilo. El tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF se aplican con preferencia sin dichos agentes adicionales.
- En el contexto de esta invención puede utilizarse un agente antihormonal para el tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF después del fallo de la terapia previa, con preferencia la monoterapia previa de primera línea, con un anticuerpo anti-HER2 (es decir, en un paciente que sufra la recaída en el cáncer positivo de HER2). Tal como se emplea aquí, el término "anti-hormonal agente" incluye los compuestos orgánicos o peptídicos naturales o sintéticos, que actúa para regular o inhibir la acción de las hormonas en los tumores. Los agentes antihormonales incluyen por ejemplo: los antagonistas de receptores de esteroides, los antiestrógenos, por ejemplo el tamoxifeno, raloxifeno, 4(5)-imidazoles inhibidores de la aromatasas, otros inhibidores de la aromatasas, 42-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY 117018, onapristona y toremifeno (p.ej. Fareston<sup>®</sup>); anti-andrógenos, por ejemplo la flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los compuestos anteriores; los agonistas y/o antagonistas de hormonas de glicoproteína, por ejemplo la hormona estimuladora de foliculo (FSH), hormona estimuladora de tiroides (TSH) y hormona luteinizante (LH) y LHRH (hormona que libera hormona luteinizante); el acetato de goserelina agonista de LHRH, que se suministra con el nombre comercial de Zoladex<sup>®</sup> (Astra-Zeneca); el antagonista de LHRH D-alaninamida de N-acetil-3-(2-naftalenil)-D-alanil-4-cloro-D-fenilalanil-3-(3-piridinil)-D-alanil-L-seril-N6-(3-piridinilcarbonil)-L-lisil-N6-(3-piridinil-carbonil)-D-lisil-L-leucil-N6-(1-metiletil)-L-lisil-L-prolina (p.ej. Antide<sup>®</sup>, Ares-Serono); el antagonista de LHRH acetato de ganirelix; el acetato de ciproterona esteroidea anti-andrógenos (CPA) y el acetato de megestrol, suministrado con el nombre comercial de Megace<sup>®</sup> (Bristol-Myers Oncology); la flutamida no esteroidea anti-andrógenos (2-metil-N-[4,20-nitro-3-(trifluorometil)fenil]propanamida), suministrada con el nombre comercial de Eulexin<sup>®</sup> (Schering Corp.); la nilutamida no esteroidea anti-andrógenos, (5,5-dimetil-3-[4-nitro-3-(trifluorometil-4'-nitrofenil)-4,4-dimetil-imidazolidina-diona]; y antagonistas de otros receptores no permisivos, por ejemplo los antagonistas del RAR (receptor de ácido retinoico), RXR (receptor de retinoide X), TR (receptor de tiroides), VDR (receptor de vitamina D) y similares. El tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF se aplican con preferencia sin dichos agentes antihormonales adicionales.
- El uso de agentes citotóxicos y de otros agentes anticancerosos descritos anteriormente en regímenes quimioterapéuticos está bien caracterizado en las técnicas terapéuticas contra el cáncer y su utilización deberá cumplir en este caso las mismas consideración para realizar el seguimiento de la tolerancia y de la eficacia y el control de las vías de administración y las dosis administradas, con algunos ajustes. Por ejemplo, las dosis actuales de agentes citotóxicos pueden variar en función de la respuesta de las células cultivadas del paciente, que se determina por métodos de histocultivo. En general, la dosis se reducirá con respecto a la cantidad empleada en ausencia de otros agentes adicionales.
- Las dosis típicas de un agente citotóxico eficaz pueden situarse en los intervalos recomendados por el fabricante y, si procede, pueden reducirse en su concentración o cantidad en un orden de magnitud en función de las respuestas "in vitro" o las respuestas obtenidas en modelos animales. Por consiguiente, la dosis real dependerá del criterio del facultativo, del estado general de salud del paciente y de la eficacia del método terapéutico basado en las respuestas "in vitro" de las células malignas primarias cultivadas o de la muestra de tejido histocultivado o de las respuestas observadas en modelos animales apropiados.
- En el contexto de esta invención, los agentes antiproliferativos adicionales pueden utilizarse en el tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o en el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF después del fallo de la terapia previa, con preferencia después de la monoterapia previa de primera línea, con un anticuerpo anti-HER2, incluyendo, por ejemplo: los inhibidores de la enzima farnesil-proteína-transferasa y los inhibidores del receptor de tirosina-quinasa PDGFR, incluidos los compuestos descritos y reivindicados en las patentes US-6,080,769, 6,194,438, 6,258,824, 6,586,447, 6,071,935, 6,495,564, 6,150,377, 6,596,735 y 6,479,513 y en la publicación de patente internacional WO 01/40217. Se aplica con preferencia el tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF sin dichos agentes antiproliferativos adicionales.
- En el contexto de esta invención se puede llevar a cabo un cantidad eficaz de radiación ionizante y/o se puede utilizar un agente radiofarmacéutico además del tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF después del fallo de una terapia anterior, con preferencia una monoterapia previa de primera línea, con un anticuerpo anti-HER2 (es decir, en un paciente que sufra la recaída en el cáncer positivo de HER2). La fuente de radiación puede ser externa o interna al paciente tratado. Si la

fuelle es externa al paciente, la terapia se denomina terapia de radiación con un haz externo (EBRT). Si la fuente de radiación es interna al paciente, el tratamiento se llama braquiterapia (BT). Los átomos radiactivos que pueden utilizarse en el contexto de esta invención pueden elegirse entre el grupo que incluye, pero no se limita a: el radio, cesio-137, iridio-192, americio-241, oro-198, cobalto-57, cobre-67, tecnecio-99, yodo-123, yodo-131 e indio-111. Si el inhibidor de la quinasa EGFR según esta invención es un anticuerpo, entonces será también posible marcar este anticuerpo con tales isótopos radiactivos. Se aplica con preferencia el tratamiento de combinación del anticuerpo anti-VEGF más el anticuerpo anti-HER2 o el tratamiento con el anticuerpo anti-VEGF sin radiación ionizante.

La terapia de radiación es un tratamiento estándar para controlar los tumores no resectables o inoperables y/o las metástasis tumorales. Se han obtenido resultados mejorados cuando la terapia radiológica se combina con la quimioterapia. La terapia radiológica se basa en el principio de que la radiación de dosis elevada dirigida hacia la zona tomada como diana provocará la muerte de las células reproductoras, no solo en los tejidos tumorales, sino también en los normales. El régimen de dosis de radiación se define en general en términos de dosis de radiación absorbida (Gy), tiempo y fraccionamiento, y el oncólogo deberá definirlo cuidadosamente. La cantidad de radiación que un paciente recibe dependerá de varias consideraciones, pero las dos más importantes son la localización del tumor en relación con otras estructuras u órganos críticos del organismo y la extensión que ha alcanzado el tumor en su propagación. Un curso típico de tratamiento de un paciente sometido a la terapia de radiación será un régimen de tratamiento de 1 a 6 semanas, con una dosis total comprendida entre 10 y 80 Gy, administrada al paciente en una fracción diaria única de 1,8 a 2,0 Gy, 5 días por semana. En una forma preferida de ejecución de esta invención habrá sinergismo cuando los tumores de pacientes humanos se tratan con el tratamiento de combinación de la invención y la radiación. En otras palabras, la inhibición del crecimiento del tumor con los agentes que integran la terapia de combinación o la terapia individual de la invención se intensifica cuando se combina con la radiación, opcionalmente con agentes quimioterapéuticos o anticancerosos adicionales. Los parámetros de las terapias de radiación adyuvante se han descrito por ejemplo en la publicación de patente internacional WO 99/60023.

Los anticuerpos se administran al paciente por métodos ya conocidos, por inyección intravenosa en forma de bolo o por infusión continua a lo largo de un período de tiempo, o por vía intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial o intratecal. Es preferida la administración intravenosa o subcutánea de los anticuerpos.

Se describe también un artículo industrial formado por un recipiente, una composición dentro del recipiente, que consta de un anticuerpo anti-VEGF y un prospecto que contiene las instrucciones de uso de la composición para administrar dicho anticuerpo anti-VEGF a un paciente que sufra la recaída en el cáncer positivo de HER2 durante o después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.

El término "prospecto" indica las instrucciones que acompañan habitualmente a los envases comerciales de productos terapéuticos, que pueden incluir información sobre las indicaciones, uso, dosificación, administración, contraindicaciones y/o avisos relativos al uso de semejantes productos terapéuticos.

Los recipientes de los artículos fabricados pueden contener además un vehículo farmacéuticamente aceptable. El artículo industrial puede incluir además un diluyente estéril, que se almacena con preferencia en un recipiente adicional separado.

Un "vehículo farmacéuticamente aceptable" se emplea aquí para incluir a todos y cada uno de los materiales compatibles con la administración farmacéutica, incluidos los disolventes, dispersantes, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y otros materiales y compuestos compatibles con la administración farmacéutica. Excepto el supuesto, en el que cualquiera de los medios o agentes convencionales pueda ser incompatible con el compuesto activo, se contempla el uso de los mismos en las composiciones de la invención. Los compuestos activos suplementarios pueden incorporarse también a las composiciones.

Los siguientes ejemplos y figuras se facilitan para ayudar en la comprensión de la presente invención, cuyo verdadero alcance se define en las reivindicaciones adjuntas.

Descripción de las figuras

Figura 1

Actividad antitumoral de a) un tratamiento combinado del trastuzumab y el bevacizumab y b) un tratamiento individual con el bevacizumab sobre el crecimiento tumoral después del fallo del tratamiento con el trastuzumab. Los valores medios de volumen tumoral ( $\text{mm}^3$ ) se representan sobre el eje Y (ordenadas); el número de días después de la inyección de las células tumorales se representa en el eje X (abscisas). A) vehículo (círculos), B) trastuzumab en la dosis de carga de 30 mg/kg y la dosis de mantenimiento de 15 mg/kg una vez por semana (cuadrados). El día 60 se dividen los animales del grupo B en otros tres grupos B' (cuadrados después del día 60), C y D. El tratamiento con el trastuzumab solo se mantiene únicamente para el grupo B' con una dosis semanal de 15 mg/kg (dosis de mantenimiento). C) desde el día 61 la dosis de mantenimiento de trastuzumab de 15 mg/kg una vez por semana en combinación con una dosis adicional de tratamiento con bevacizumab de 5 mg/kg dos veces por semana (triángulos)

y D) desde el día 61 el bevacizumab a razón de 5 mg/kg dos veces por semana cuando se interrumpe el tratamiento con trastuzumab (cruces). Se indican con uno o más asteriscos (\*) los puntos temporales en los que se sacrifican un ratón (\*) o varios ratones (\*\*\*) en base a los criterios de terminación.

5 Figura 2

Efecto del (A) grupo al que se administra el vehículo, pero sin tratamiento, (B) tratamiento con trastuzumab solo (hasta el día 83), (C) (tratamiento combinado de trastuzumab y bevacizumab (del día 61 al día 112) después del tratamiento con trastuzumab solo (del día 27 al día 60) y (D) tratamiento con bevacizumab solo (del día 61 al día 112) después del tratamiento con trastuzumab solo (del día 27 al día 60) en la metástasis hepática. Valor promedio de la secuencia de Alu DNA humana (pg/ml) cuantificado a partir de tejido hepático empleando la PCR en tiempo real y representado sobre el eje de Y (ordenadas).

10

15 Procedimientos experimentales

Introducción

15

En el estudio presente se examina la actividad antitumoral de a) la combinación de trastuzumab y bevacizumab y b) el tratamiento con bevacizumab solo, después del fallo del tratamiento con trastuzumab solo en un modelo de injerto ajeno de cáncer de mama humano. Otro objetivo del estudio es examinar los efectos del tratamiento en la metástasis.

20

Agentes ensayados

El trastuzumab se proporciona en forma de solución patrón de 25 mg/ml en clorhidrato de histidina, alfa-alfa-trehalosa (60 mM), 0,01 % de Polysorb, pH 6,0 (Herceptin®). El bevacizumab se proporciona en forma de solución patrón de 25 mg/ml en fosfato Na, alfa-alfa-trehalosa (60 mM), 0,01 % de Polysorb, pH 6,0 (Avastin®). Las dos soluciones se diluyen de forma apropiada con PBS para preparar las soluciones inyectables.

25

30 Líneas celulares y condiciones de cultivo

Se estable la línea celular KPL-4 de cáncer de mama humano a partir de la efusión pleural maligna de una paciente de cáncer de mama, que sufre una metástasis cutánea inflamatoria, y se sobreexpresa en los receptores del grupo ErbB (Kurebayashi y col., Br. J. Cancer 79, 707-17, 1999). Las células tumorales se cultivan de forma rutinaria en un medio de cultivo DMEM (PAA Laboratories, Austria) suplementado con un 10 % de suero fetal bovino (PM) y L-glutamina 2 mM (Gibco) a 37°C en una atmósfera saturada de agua y con un 5 % de CO<sub>2</sub>. El pasaje del cultivo se realiza por división con tripsina/EDTA 1 x (PM) dos veces / semana. Para el estudio "in vivo" se emplea el pasaje celular P6.

35

40 Animales

Se mantienen los ratones SCID de color beige (C.B.-17); de una edad de 10-12 semanas; peso corporal de 18-20 g (Charles River, Sulzfeld, Alemania) en condiciones específicas, libres de patógenos, con ciclos diarios de 12 h de luz y 12 h de oscuridad con arreglo a las directrices internacionales (GV-Solas; Felasa; TierschG). Después de su recepción se alojan los animales en la sección de cuarentena de la instalación animal durante una semana, para que se acostumbren al nuevo entorno y para someterlos a observación. Se lleva a cabo un seguimiento continuo de su salud en una base regular. Se les facilita pienso (altromina) y agua (acidificada a pH 2,5-3) a discreción.

45

Estudios de inhibición del crecimiento tumoral "in vivo"

Se recogen las células tumorales (tripsina-EDTA) de los frascos de cultivo (Greiner TriFlask) y se transfieren a 50 ml de medio de cultivo, se lavan una vez y se suspenden de nuevo en PBS. Después de un paso adicional de lavado con PBS y filtración (tamiz o colador celular; Falcon 100 µm) se ajusta la concentración celular final a  $0,75 \times 10^8$  / ml. Se mezcla cuidadosamente la suspensión de células tumorales con la pipeta de transferencia para evitar la agregación celular. Se realiza la anestesia empleando un dispositivo de inhalación Stephens para los animales pequeños con cámara de preincubación (metacrilato = Plexiglas), máscara inhaladora para cada ratón individual (silicona) e isoflurano (Pharmacia-Upjohn, Alemania) en un sistema cerrado de circulación. Dos días antes de la inyección se afeita la piel de los animales. Para la introducción en la almohadilla grasa de la mama (i.m.f.p.) se inyectan las células ortotópicamente en un volumen de 30 µl en la almohadilla grasa de la penúltima mama inguinal de cada ratón anestesiado. Para el implante ortotópico se inyecta la suspensión celular a través de la piel, debajo del pezón. La inyección de las células tumorales se realiza el día 1 del ensayo.

50

55

60

Seguimiento

Los animales se controlan a diario para detectar los síntomas clínicos de los efectos adversos. Para el seguimiento a

65

lo largo del ensayo se documenta el peso corporal de los animales dos veces por semana y se mide el volumen tumoral con un pie de rey dos veces por semana. El volumen del tumor primario se calcula con arreglo al protocolo NCI ( $VT = 1/2ab^2$ , en el que a y b son los diámetros largo y corto del tamaño del volumen en mm, Teicher, B., Anticancer drug development guide, Humana Press, 5, 92, 1997). Se documentan los valores calculados en forma de media y desviación estándar.

#### Tratamiento de los animales

Se dividen aleatoriamente en grupos los ratones que llevan tumor, cuando el volumen del tumor alcanza aproximadamente los  $100 \text{ mm}^3$  ( $n = 10$  en cada grupo). Cada grupo se delimita cuidadosamente antes del tratamiento, que se inicia 27 días después de la inyección de las células tumorales. Grupo A: grupo que recibe el vehículo - se administran 10 ml/kg de tampón PBS por vía intraperitoneal (i.p.) una vez por semana. Grupo B: se administra el trastuzumab por vía i.p. en una dosis de carga de 30 mg/kg, después se administran dosis de 15 mg/kg (dosis de mantenimiento) una vez por semana. El día 60 se dividen los animales del grupo B en otros tres grupos B', C y D. Se mantiene el tratamiento con trastuzumab solo únicamente para el Grupo B' que recibe dosis de 15 mg/kg (dosis de mantenimiento) una vez por semana. Grupo C: el día 61, se cambia el tratamiento del grupo C por un tratamiento de combinación de trastuzumab (15 mg/kg una vez por semana por vía i.p.) y bevacizumab (5 mg/kg dos veces por semana por vía i.p.). Grupo D: el día 61, se cambia el tratamiento del grupo D por una monoterapia con bevacizumab (5 mg/kg dos veces por semana por vía i.p.), interrumpiéndose el tratamiento con trastuzumab.

#### Evaluación de las metástasis

La propagación de las células tumorales hacia el pulmón se determina en los animales sacrificados. Se miden las metástasis según Schneider, T. y col., Clin. Exp. Metas. 19, 571-582, 2002. Resumiendo, se recoge tejido pulmonar y se cuantifican las secuencias de Alu humana mediante una PCR en tiempo real. Los valores más altos de DNA humano, cuantificados mediante la PCR en tiempo real, indican niveles más elevados de metástasis.

#### Resultados

El efecto del tratamiento en el crecimiento de los tumores primarios se representa en la figura 1 y se recoge en la tabla 1. Los tumores del grupo que solamente recibe el vehículo (grupo A) crecen rápidamente y los ratones se sacrifican a los 73 días de la inyección de las células tumorales, debido a la ulceración de los tumores y el desarrollo de síntomas clínicos. El tratamiento con trastuzumab (grupo B) suprime significativamente el crecimiento tumoral; sin embargo, los tumores inician un nuevo crecimiento aprox. a partir del día 50. El cambio al tratamiento de combinación con trastuzumab y bevacizumab (grupo C) y el cambio a la monoterapia con bevacizumab (grupo D) a partir del día 61, dan como resultado en ambos casos la inhibición completa del crecimiento tumoral durante la duración del ensayo (día 112) y el tratamiento es bien tolerado.

Tabla 1

Actividad antitumoral de a) tratamiento combinado con trastuzumab y bevacizumab y b) tratamiento con bevacizumab solo en el crecimiento tumoral después del fallo del tratamiento con trastuzumab (datos en la figura 1). Se indica el volumen tumoral medio en $\text{mm}^3$ y también la desviación estándar (SD).								
día	vehículo (A)	SD	trastuzumab (B+B')	SD	cambio de trastuzumab a trastuzumab + bevacizumab (C)	SD	cambio de trastuzumab a monoterapia con bevacizumab (D)	SD
27	85	27	81	29				
29	115	42	106	36				
34	136	66	100	49				
37	193	108	97	70				
41	235	163	133	100				
44	335	220	139	128				
48	406	309	172	181				
51	591	463	201	203				
55	690	479	263	286				
58	565	333	315	383				
60	729	402	393	426				
63	911	391	493	531	407	263	427	365
65	898	313	585	582	350	210	306	220
70	1213	440	798	776	190	45	180	142
73	1015	330	961	841	149	44	154	112
77			861	418	146	45	129	78
79			896	434	159	92	127	84
83			1034	485	158	148	97	80
87					193	228	95	57

91					159	166	100	82
94					225	292	120	106
98					242	340	112	95
101					154	160	120	108
105					119	109	92	85
108					175	157	104	105
112					122	68	110	103

5 El efecto del tratamiento en la metástasis hepática se representa en la figura 2 y se recoge en la tabla 2. La combinación de trastuzumab y bevacizumab después del fallo del tratamiento con trastuzumab se traduce en una reducción drástica de la metástasis. Los niveles de las secuencias Alu humanas (que guardan relación con la invasión de células tumorales hacia el tejido secundario) son significativamente menores en los animales tratados con una terapia de combinación durante 31 días a partir del día 61 con respecto a los animales tratados con vehículo, que se sacrifican el día 73. La metástasis se suprime también en los animales tratados con monoterapia con trastuzumab o bevacizumab y que se sacrifican el día 83 y 112, respectivamente. Este efecto sorprendente en la metástasis contrasta con el efecto observado empleando fármacos citotóxicos (Geldof y col., Anticancer Res. 8, 1335-40, 1988; 10 Murphy, J., Clin. Oncol. 11, 199-201, 1993 y De Larco y col., Cancer Res. 61, 2857-61, 2001).

Tabla 2

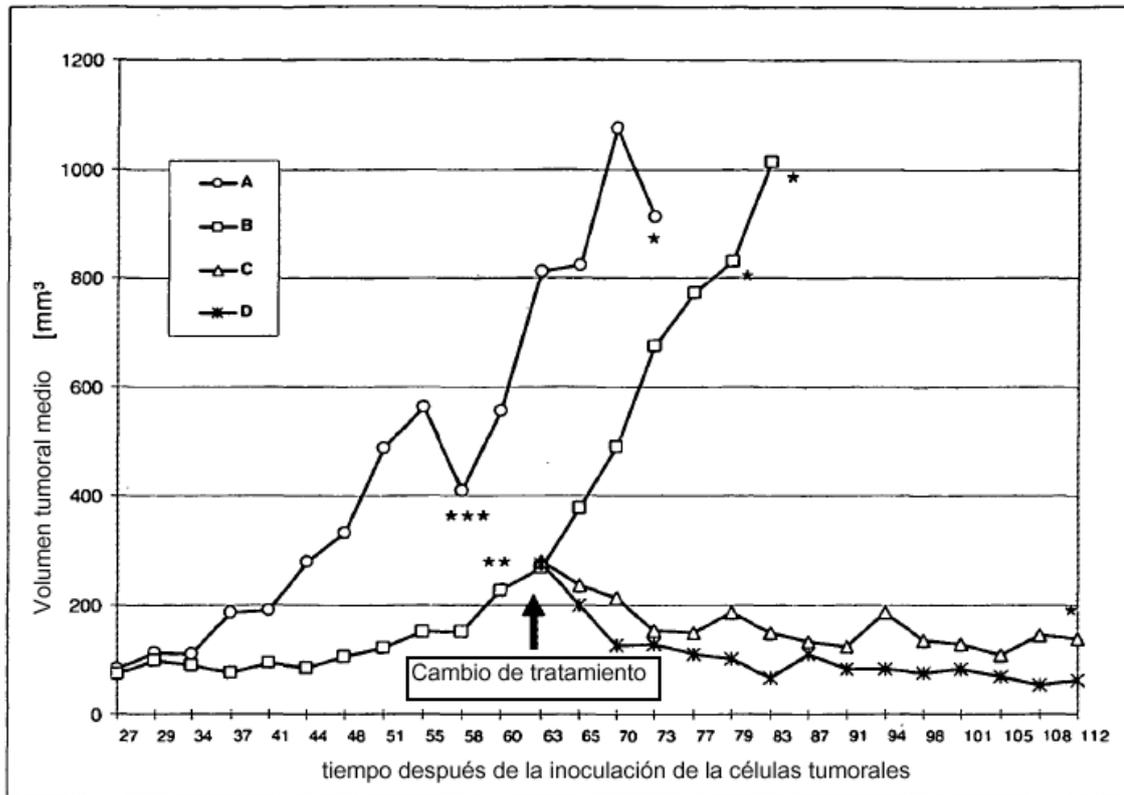
Efecto del tratamiento en la metástasis hepática. El Alu DNA se cuantifica por PCR en tiempo real y se registra para cada animal				
	vehículo (A) (día 73)	trastuzumab (B+B') (día 83)	bevacizumab (D) (día 112)	trastuzumab + bevacizumab (C) (día 112)
DNA humano [pg/ml]	41,750	21,000	12,250	7,155
	51,400	10,550	7,405	6,785
	54,500	26,600	45,600	15,500
	19,300	12,250	29,200	8,040
	6,545	37,900	7,640	8,305
	48,550	25,050	22,900	
			7,740	
media	37,008	22,225	18,962	9,157

15

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de un anticuerpo anti-VEGF para la fabricación de un medicamento destinado a prevenir o reducir las metástasis en un paciente que sufra la recaída en un cáncer de mama positivo de HER2, durante o después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2, dicha recaída en un cáncer de mama positivo de HER2 significa el crecimiento incontrolado de células anormales, caracterizado porque la sobreexpresión de la proteína HER2 en los pacientes que tienen el tumor y que inicialmente respondían a la terapia previa con un anticuerpo anti-HER2, pero cuya respuesta terapéutica no se ha mantenido durante el tratamiento con dicho anticuerpo anti-HER2.
- 10 2. Uso según la reivindicación 1 caracterizado porque dicho medicamento es para la administración al paciente durante el tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.
- 15 3. Uso según la reivindicación 2 caracterizado porque dicho medicamento es para la administración al paciente después de una monoterapia de primera línea con un anticuerpo anti-HER2.
4. Uso según la reivindicación 1 caracterizado porque dicho medicamento es para la administración al paciente después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.
- 20 5. Uso según la reivindicación 4 caracterizado porque dicho medicamento es para la administración al paciente después de una monoterapia de primera línea con un anticuerpo anti-HER2.
6. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 5, caracterizado porque dicho anticuerpo anti-VEGF es el bevacizumab.
- 25 7. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 6, caracterizado porque dicho anticuerpo anti-HER2 es el trastuzumab.
8. Un anticuerpo anti-VEGF para el uso en un método destinado a prevenir o reducir las metástasis en un paciente, que sufra la recaída en un cáncer de mama positivo de HER2, durante o después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2, dicha recaída en un cáncer de mama positivo de HER2 significa el crecimiento incontrolado de células anormales, caracterizado porque la sobreexpresión de la proteína HER2 en los pacientes que tienen el tumor y que inicialmente respondían a la terapia previa con un anticuerpo anti-HER2, pero cuya respuesta terapéutica no se ha mantenido durante el tratamiento con dicho anticuerpo anti-HER2.
- 30 9. El anticuerpo anti-VEGF para el uso según la reivindicación 8, destinado a la administración al paciente durante el tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.
- 35 10. El anticuerpo anti-VEGF para el uso según la reivindicación 9, destinado a la administración al paciente después de una monoterapia de primera línea con un anticuerpo anti-HER2.
- 40 11. El anticuerpo anti-VEGF para el uso según la reivindicación 8, destinado a la administración al paciente después del tratamiento con un anticuerpo anti-HER2.
- 45 12. El anticuerpo anti-VEGF para el uso según la reivindicación 11, destinado a la administración al paciente después de una monoterapia de primera línea con un anticuerpo anti-HER2.
13. El anticuerpo anti-VEGF para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 8-12, dicho anticuerpo es el bevacizumab.
- 50 14. El anticuerpo anti-VEGF para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 8-13, caracterizado porque dicho anticuerpo anti-HER2 es el trastuzumab.
- 55 15. El anticuerpo anti-VEGF según la reivindicación 8 caracterizado porque dicho anticuerpo anti-VEGF es el bevacizumab, destinado a la administración después de una monoterapia de primera línea con el trastuzumab.
16. Uso según la reivindicación 1 caracterizado porque dicho anticuerpo anti-VEGF es el bevacizumab y porque dicho medicamento está destinado a la administración después de una monoterapia de primera línea con trastuzumab.

**Fig. 1**



**Fig. 2**

