

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 444 405**

51 Int. Cl.:

A61K 51/10 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61K 103/20 (2006.01)

A61K 103/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.11.2006 E 06829224 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2013 EP 1962913**

54 Título: **Inmunoconjugado para CD66 humano para el tratamiento de mieloma múltiple**

30 Prioridad:

30.11.2005 US 740647 P

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

24.02.2014

73 Titular/es:

THERAPHARM GMBH (100.0%)

BAARER STRASSE 8

6301 ZUG, CH

72 Inventor/es:

BENES, IVAN;

BOSSLET, KLAUS;

ORCHARD, KIM y

DROZ, LADISLAV

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 444 405 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

Inmunoconjugado para CD66 humano para el tratamiento de mieloma múltiple

La presente invención se refiere al uso de radioinmunoconjugados para el tratamiento de tumores malignos hematológicos, en particular mieloma múltiple.

5 **Antecedentes de la invención**

El mieloma múltiple comprende el 1% de todos los tumores malignos y justifica el 10% de los tumores malignos hematológicos. La edad media en el diagnóstico es 60-65 años; < 2% de los pacientes de mieloma tienen < 40 años en el diagnóstico.

Los resultados de tratamientos actuales disponibles para pacientes con mieloma múltiple sintomático son decepcionantes. La supervivencia media es < 3 años y las posibilidades para sobrevivir en 10 años son escasas con quimioterapia tradicional. El tratamiento inicial con ciclos intermitentes de melfalán y prednisolona tiene una duración media de respuesta de sólo veinticuatro meses y la supervivencia media de aproximadamente tres años. Consecuentemente, en estudios clínicos menos del 10% de los pacientes sobreviven más de 10 años desde el diagnóstico y hay muy pocos supervivientes a largo plazo. Se ha usado una serie de tratamientos de quimioterapia asociados y aunque se han demostrado mayores índices de respuesta ha habido poco impacto sobre la duración de la supervivencia. El tratamiento con dosis alta seguido por rescate de médula ósea autóloga o hemocitoblastos de sangre periférica (AutoPBSCT) aumenta el índice de respuesta, la supervivencia sin enfermedad y la supervivencia total pero la mayoría de los pacientes recae en cinco años. El origen de las células que causan recaída en estos pacientes no es conocido pero debe ser causado por la re-infusión de células tumorales que contaminan material autólogo o por eliminación insuficiente de la enfermedad por el tratamiento de acondicionamiento o una combinación de los dos. La reducción de tumores aumentada *in vivo* podía ser posible en teoría aumentando además el tratamiento de acondicionamiento. Esto se ha ensayado en una serie de estudios usando antineoplásicos adicionales o con la adición de radioterapia de cuerpo total de haz externo o de alto voltaje como irradiación total del cuerpo. Sin embargo, la intensificación del tratamiento de acondicionamiento se ha asociado a un aumento significativo de la toxicidad.

La quimioterapia tradicional de **primera línea** usada con frecuencia son asociaciones de hasta 4 fármacos citotóxicos tales como doxorubicina, carmustina, ciclofosfamida, dexametasona, etopósido, melfalán, (metil)prednisolona, vincristina e idarrubicina, todos los cuales están complementados con agentes protectores del hueso como los bisfosfonatos (Clodronato etc). Sin embargo, este tratamiento raramente da como resultado remisiones completas (RC) y las remisiones a largo plazo son raras.

Por lo tanto, se introdujo el trasplante autólogo de hemocitoblastos (ASCT, por sus siglas en inglés) como tratamiento de **segunda línea** de pacientes con MM sintomático. Se investigaron clínicamente diversos tratamientos de acondicionamiento tales como melfalán a altas dosis (MAD), MAD junto con irradiación total del cuerpo (ITC), MAD junto con busulfán, melfalán a baja dosis junto con ciclofosfamida seguido por ITC y MAD junto con etopósido seguido por ITC.

MAD (200 mg/m²) seguido por ASCT ha aumentado sustancialmente la frecuencia de remisión y ha prolongado la supervivencia sin evolución (SSE) y la supervivencia total (ST) que se establece ahora como el patrón de cuidado para tratamiento de MM sintomático (Terpos E. et. al., Expert Opin. Pharmacother., 2.005, 6 (7): 1.127-1.142).

Como ajuste de **tercera línea** se usan talidomida, bortezomib y otros para tratamiento mejorado adicional. Además, en una serie de estudios se están evaluando fármacos experimentales tales como compuestos anti-angiogénicos, inhibidores de la histona deacetilasa, inhibidores de la metaloproteasa, inhibidores de la farnesiltransferasa, inhibidores de proteínas de choque térmico y oligonucleótidos antisentido BCL2.

La toxicidad asociada al aumento de la dosis adicional ha conducido al desarrollo de trasplantes autólogos en tándem que permite el suministro de intensificación del tratamiento con menos toxicidad que el tratamiento equivalente en un caso de un solo trasplante. La función del trasplante de hemocitoblastos en tándem queda sin decidir.

Una característica de la evolución de la enfermedad en mieloma es la aparición de resistencia a la quimioterapia, en parte debido a la expresión de la resistencia a múltiples fármacos mediada por la p-glicoproteína, proteína relacionada con la resistencia a multifármacos o la proteína de cúpula principal. Se requiere desarrollar nuevas estrategias de tratamiento dirigidas a la población de células malignas, en particular que destruyen las células malignas por mecanismos diferentes a la quimioterapia sistémica. Se han ensayado estrategias terapéuticas que explotan la inherente radiosensibilidad de las células plasmáticas malignas mientras se reduce la toxicidad no específica de irradiación de haz externo; éstas incluyen irradiación total de la médula junto con busulfán y ciclofosfamida o radioterapia diana usando agentes de búsqueda de hueso radiomarcados. La irradiación total de la médula es técnicamente difícil y en la práctica es una forma de ITC con protección de órganos modificada, se protegió el 90% de pulmón e hígado (9 Gy en 6 fracciones) y tratamiento de haz electrónico separado proporcionado a áreas de la costilla protegidas de ITC. Los índices de respuesta totales fueron buenos consiguiendo RC 39/89

(44%) de los pacientes y 50/89 (56%) una RP. En pacientes con mieloma *de novo* el índice de RC fue superior a 48%. Sin embargo, la toxicidad para tejidos no hematopoyéticos fue alta, experimentando 68/89 (76%) toxicidad gastrointestinal de grado III - IV. Las duraciones de la estancia en el hospital fueron también más largas que para melfalán a alta dosis debido al largo pre-tratamiento (12 días) antes de infusión intravenosa de hemocitoblastos.

- 5 Una serie de radioinmunoconjugados (RIC) usando anticuerpos monoclonales selectivos para antígenos hematopoyéticos tales como CD45, CD33, CD20, CD19 y CD66 ha sido el objeto de investigaciones para acondicionamiento de médula ósea antes de trasplante en tumores malignos hematológicos tales como leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA) y mielodisplasia transformada (MDS), (Matthews D. et al., Blood, 1.999, 94: 1.237-1.247; Jurcic JG, Cancer Biother Radiopharm., 2.000, 15: 319-326; Bunjes D. et al., Blood, 10 2.001, 98: 565-572). Se aplicó RIC además de tratamientos de acondicionamiento clásicos para evaluar su eficacia en un ajuste clínico.

- 15 Hardsdorf *et al* (Annual Meeting of the German and Austrian Society for Hematology and Oncology, Graz, Austria, 21-25 de octubre de 2.000 & Onkologie, octubre de 2.000, vol. 23, página 123) indican el uso de trasplante de hemocitoblastos alogénico en pacientes con mieloma múltiple combinado con radioinmunoterapia con anticuerpo anti-CD66.

- 20 Sin embargo, la mayoría de estos radioinmunoconjugados muestra absorción en órganos no hematopoyéticos tales como el hígado y los riñones. La causa de esta absorción no diana de radioinmunoconjugado es multifactorial e incluye absorción específica y no específica e inestabilidad del inmunoconjugado in vivo. Esta absorción no hematopoyética limita la cantidad de inmunoconjugado que se puede administrar, limitando así su potencial como agentes diana, reduciendo la dosis de radiación eficaz suministrada a la médula ósea. Por consiguiente, a pesar de un efecto diana prometedor sobre la masa tumoral y la médula ósea, los RIC aplicados muestran toxicidad limitante de la dosis grave en el hígado, pulmón y riñones. Esta toxicidad limitante de la dosis puede ser debida a la selectividad de los anticuerpos usados y/o la estabilidad de la radioetiqueta unida (por ejemplo cuando se observa usando la molécula reducida marcada con ¹⁸⁸Re de MAb anti-CD66 estudiado por Bunjes et al.).

- 25 Así, existe la necesidad de proporcionar procedimientos terapéuticos mejorados adicionales para el tratamiento de trastornos hematológicos.

Inesperadamente, se ha encontrado que la radioinmunoterapia diana en acondicionamiento de médula ósea usando un RIC que consiste en anticuerpo monoclonal BW 250/183 selectivo para CD66 (MAb anti-CD66) radiomarcado con ⁹⁰Y conduce a remisión completa en varios casos de mieloma múltiple.

- 30 Una materia de la presente solicitud es el uso de un radioinmunoconjugado terapéutico (RIC) para la fabricación de un medicamento para administración en el tratamiento de mieloma múltiple (MM), en el que el RIC terapéutico comprende un anticuerpo de unión a CD66 BW 250/183 o un fragmento del mismo y un radionúclido, que está unido al anticuerpo de unión a CD66 BW 250/183 o un fragmento del mismo vía un agente quelante, en el que el radionúclido es un radionúclido terapéuticamente activo.

- 35 El tratamiento puede comprender la administración de radionucleótidos adecuados para formación de imágenes y/o irradiación terapéutica de médula ósea así como células tumorales. La administración de RIC es preferiblemente un tratamiento de acondicionamiento junto con medidas terapéuticas adicionales como se explica con detalle más adelante.

- 40 El radionúclido del RIC puede ser un radionúclido terapéuticamente eficaz, es decir, un radionúclido que es adecuado para el tratamiento de trastornos malignos hematológicos por irradiación. Por ejemplo, el radionúclido terapéuticamente eficaz puede ser itrio-90 (⁹⁰Y), yodo-131 (¹³¹I), samario-153 (¹⁵³Sm), holmio-166 (¹⁶⁶Ho), renio-186 (¹⁸⁶Re), renio-188 (¹⁸⁸Re) u otro radionúclido emisor de β o β/γ o puede ser un emisor α tal como astato-211 (²¹¹At), bismuto-212 (²¹²Bi), bismuto-213 (²¹³Bi) o actinio-225 (²²⁵Ac).

- 45 El radionúclido del RIC también puede ser un radionúclido para diagnóstico por la imagen, es decir, un radionúclido que es adecuado para controlar y/o determinar la farmacocinética del RIC. Por ejemplo, el radionúclido para diagnóstico por la imagen puede ser indio-111 (¹¹¹In), yodo-131 (¹³¹I) o tecnecio-99m (^{99m}Tc).

- 50 En una realización especialmente preferida, la invención incluye determinar la dosis terapéuticamente eficaz de un RIC terapéutico previamente a la administración. Esta determinación se puede llevar a cabo de manera individual para un individuo que se tenga que tratar o para un grupo de individuos, por ej., basándose en la importancia o la evolución de la enfermedad. Por ejemplo, la invención puede comprender la administración de un RIC que comprende un radionúclido para diagnóstico por la imagen y una administración posterior de un RIC que comprende un radionúclido terapéuticamente eficaz. Mediante una primera administración de un RIC para diagnóstico por la imagen, la dosis eficaz del RIC terapéutico administrado con posterioridad se puede determinar de manera individual y/o ajustar para un respectivo individuo, por ej., un paciente humano. En esta realización, el componente de unión a CD66 del RIC para diagnóstico por la imagen y el RIC terapéutico es idéntico, al menos con respecto a la especificidad y/o afinidad de unión a CD66.

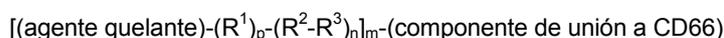
Se debería observar, sin embargo, que la administración de un RIC para diagnóstico por la imagen previamente a la

administración de un RIC terapéutico podía no ser necesaria, si se han recogido suficientes datos de los pacientes, por ej., en una base de datos, para determinar una cantidad terapéuticamente activa del RIC. Así, una realización preferida más de la invención comprende determinar una dosis terapéuticamente eficaz de un RIC por evaluación de datos pre-existentes, por ej., de una base de datos.

5 El componente de unión a CD66 es el anticuerpo BW 250/183 o un fragmento del mismo. Es un polipéptido que comprende al menos un dominio de unión a anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo, en particular un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo recombinante, tal como un anticuerpo de cadena única o fragmento del mismo, por ej., fragmentos de anticuerpos proteolíticos tales como los fragmentos Fab-, Fab'- o F(ab)₂ o fragmentos de anticuerpos recombinantes, tales como fragmentos Fv de una sola

10 cadena. En una realización preferida, el componente de unión a CD66 se une de manera selectiva al antígeno CD66 humano o un epítipo del mismo, por ej., CD66a, b, c, d o e. En una realización preferida, el componente de unión a CD66 es el anticuerpo BW 250/183. Se describen formas humanizadas y recombinantes, de murina, de este anticuerpo en las patentes europeas EP-A-0 388 914, EP-A-0 585 570 y EP-A-0 972 528.

15 El radionúclido está ligado al componente de unión a CD66 como se definió anteriormente vía un agente quelante, siendo la unión preferiblemente una unión covalente. Más preferiblemente, el radionúclido está ligado al componente de unión a CD66 vía una estructura de la fórmula:

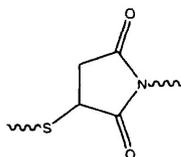


en la que n es 0 ó 1,

20 m es 1 a 15,

p es 0 ó 1,

R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: -NHCSNH-, -NHCONH-, -NHCOCH₂S, -S-S-, -NH-NH-, -NH-, -S-, -CONHNH-, -SCH₂CH₂COONH-, -SCH₂CH₂SO₂-, -SCH₂CH₂SO₂NH-, -CONH-, -O-CH₂CH₂O-, -CO-, -COO-, -NH-O-, -CONHO-, -S-(CH₂)₃C(NH)NH-, -NH-COO-, -O- y



, y

25 R² se selecciona del grupo que consiste en: alquileo C1-C18, C1-C18 ramificado, -CH₂-C₆H₁₀-, *p*-alquilfenileno, *p*-fenileno, *m*-fenileno, *p*-alquioxifenileno, naftileno, -[CH₂CH₂O]_x-, -[CH₂CH₂SOCH₂CH₂]_x-, -[CH₂CH₂SO₂CH₂CH₂]_x- o -[NHCHR₄CO]_y-, en las que x es 1 a 200, y es 1 a 20 y en la que R₄ se selecciona del grupo que consiste en: H-, Me-, HSCH₂-, isopropilo, but-2-ilo, CH₃SCH₂CH₂-, bencilo, 1 H-indol-3-il-metilo, HOCH₂-, HOOCCH₂-, CH₃CH(OH)-, HOOCCH₂CH₂-, 4-hidroxibencilo, H₂NCOCH₂-, H₂NCOCH₂CH₂-, 4-aminobut-1-ilo, 2-guanidinoetilo, 1 H-imidazol-5-il-metilo y 2-metilprop-1-ilo.

Por ejemplo, el agente quelante puede ser seleccionado del grupo que consiste en: ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (TETA), ácido 1,4,7-triazonano-N,N',N''-triacético (NOTA), ácido 2,2'-(2-(((1S,2S)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodii)diacético (ciclohexano-DTPA), ácido 2,2'-(2-(((1R,2R)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodii)diacético, ácido 2,2'-(2-(((1S,2R)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodii)diacético, ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1S,2S)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodii)bis(etano-2,1-diil)bis(azanotriil)tetraacético, ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1S,2R)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodii)bis(etano-2,1-diil)bis(azanotriil)tetraacético, ácido (1R)-1-bencil-dietilenotriaminopentaacético, ácido (1S)-1-bencil-dietilenotriaminopentaacético, ácido (2R)-2-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, ácido 2,2'-((1R,2R)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodii)diacético, ácido 2,2'-((1S,2S)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodii)diacético, ácido 2,2'-((1R,2R)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodii)diacético, ácido 2,2'-((1S,2S)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-

5 fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2S)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2R)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2R)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2S)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido (2S)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido (2R)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 6-bencil-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 2-bencil-1,4,7-triazonano-N,N',N''-triacético o un derivado de los mismos. En una realización especialmente preferida, se usa ácido isotiocianato-bencil-3-metil-dietilenotriaminopentaacético (ITC-2B3M-DTPA) como agente quelante.

10 La administración del RIC terapéutico de la presente invención para el tratamiento de pacientes humanos es preferiblemente en una dosis de \geq aproximadamente 10 MBq/kg de peso corporal (pc), preferiblemente de \geq aproximadamente 15 MBq/kg de pc, más preferiblemente de \geq aproximadamente 20 MBq/kg de pc, aún más preferiblemente de \geq aproximadamente 25 MBq/kg de pc, aún más preferiblemente de \geq aproximadamente 30 MBq/kg de pc y aún más preferiblemente de \geq aproximadamente 35 MBq/kg de pc. El RIC se puede administrar según métodos conocidos, por ej., por infusión intravenosa.

15 El RIC de la invención se administra preferiblemente como tratamiento de acondicionamiento en una terapia que comprende medidas adicionales, por ej., administrar un agente antitumor, administrar un agente inmunosupresivo y/o trasplante de hemocitoblastos.

20 Ejemplos de agentes antitumor adecuados para uso junto con RIC incluyen antineoplásicos tales como: melfalán, ciclofosfamida, (metil)prednisolona, idarrubicina, dexametasona, etopósido, fludarabina, treosulfán, busulfán (oral o intravenoso) solos o asociaciones de varios, por ej., 2, 3, 4 de estos agentes opcionalmente con agentes protectores del hueso como bisfosfonatos. Preferiblemente, el antineoplásico es melfalán a alta dosis, melfalán a baja dosis o una asociación de melfalán a alta dosis o melfalán a baja dosis opcionalmente con otros quimioterapéuticos tales como ciclofosfoamida, fludarabina, busulfán y/o treosulfán. Más ejemplos de agentes antitumor adecuados incluyen anticuerpos antitumor tales como Rituximab.

25 Ejemplos de agentes inmunosupresivos adecuados incluyen anticuerpos tales como Campath 1H, ciclosporina y rapamicina.

El trasplante de hemocitoblastos comprende trasplante de hemocitoblastos autólogo y/o alogénico.

30 Los protocolos terapéuticos especialmente preferidos, en particular para la terapia de mieloma múltiple comprenden las etapas:

- (a) administrar un RIC para diagnóstico por la imagen al paciente;
- (b) administrar el RIC terapéutico como se definió anteriormente al paciente;
- (c) administrar al menos un agente antitumor y/o un anticuerpo antitumor al paciente y
- (d) trasplantar hemocitoblastos autólogos o alogénicos.

35 Preferiblemente, la etapa (c) comprende administrar melfalán, por ej., melfalán a alta dosis, una asociación de fludarabina y anticuerpo Campath 1H opcionalmente con ciclofosfamida y/o melfalán; ciclofosfamida y busulfán, ciclofosfamida junto con irradiación total del cuerpo y fludarabina junto con melfalán, busulfán y/o treosulfán. Los tratamientos de acondicionamiento de trasplante de hemocitoblastos específicos incluyen la administración de lo siguiente:

40 Ciclofosfamida 120 mg por m^2 y busulfán 16 mg por m^2 (o equivalente intravenoso); ciclofosfamida 120 mg por m^2 e irradiación total del cuerpo de cualquier dosis total, suministro de dosis única o fraccionada; tratamientos de intensidad reducida (también conocida como intensidad baja, trasplante 'mini-alogénico') que consisten en asociaciones de fludarabina y melfalán (dosis 110-140 mg por m^2), fludarabina más busulfán 8 mg por m^2 (equivalente oral o intravenoso), fludarabina más treosulfán.

45 Además, la invención se explicará con más detalle por los siguientes ejemplos.

Ejemplo

Propósitos y objetivos del estudio:

50 1. Para determinar la dosis máxima tolerada (DMT) de radioterapia diana suministrada por un MAb anti-CD66 de ratón marcado con ^{90}Y y determinar la toxicidad limitante de la dosis (TLD) en pacientes con tumores malignos hematológicos, preferentemente MM, que padecen trasplante de hemocitoblastos hematopoyéticos.

2. Para determinar la farmacocinética de MAb anti-CD66 marcado con ^{111}In en sangre, orina y órganos específicos.

3. Para desarrollar un modelo de dosimetría basado en la farmacocinética del Mab anti-CD66 marcado.

Diseño del estudio:

5 Este fue un estudio de fase I de aumento de la dosis de radiación, no comparativo, de etiqueta abierta. Una vez que se había establecido la DMT el estudio continuó con el propósito de determinar la eficacia de radiación adicional suministrada por el anticuerpo monoclonal. En el estudio de fase I, la dosis de radiación administrada se aumentó en cuatro etapas, con cinco pacientes en cada nivel de dosis de radiación.

Pacientes:

10 Se pidió a los pacientes con tumores malignos hematológicos definidos como riesgo escaso (incluyendo leucemia mieloide aguda en CR1 pero con deficientes características de pronóstico o en >CR1 o en recaída; leucemia linfoblástica aguda; mielodisplasia transformada, leucemia mieloide crónica (fase acelerada o transformación de blastocitos) y mieloma múltiple) y que era debido a padecer un procedimiento de trasplante de hemocitoblastos hematopoyético a entrar en el estudio. Los pacientes tuvieron remisión, remisión parcial o recaída.

Resumen de la metodología:

Preparación de RIC

15 MAb BW 250/183 (ahora anti-CD66 a, b, c) es un IgG₁ de ratón que se une a un epítipo compartido por diversas membranas y protoplasma de las células mieloides de agrupación de granulocitopoyesis de epítipos antigénicos incluyendo los expresados por neutrófilos.

El anticuerpo no demuestra ni la citotoxicidad mediada por células dependientes del anticuerpo ni la citotoxicidad mediada por complemento humano.

20 ¹¹¹In e ⁹⁰Y son radiometales y no se unen directamente a proteína. Para unirse a proteínas (anticuerpo) se requiere un agente quelante bifuncional, el radiomarcado es así un procedimiento de dos fases. En primer lugar, el agente quelante está ligado mediante enlaces covalentes al anticuerpo, vía los restos amino sobre restos lisina; esta forma es estable. En segundo lugar, marcar con el radiometal, que se realiza inmediatamente antes del uso del anticuerpo radiomarcado. El anticuerpo conjugado es estable en disolución acuosa y se puede almacenar congelado. El anticuerpo conjugado se puede radiomarcado después con el radiometal seleccionado, en unas horas de infusión intravenosa. Los ensayos de estabilidad muestran que el anticuerpo marcado retiene >99% de la actividad original cuando se almacena a 4°C durante hasta 6 horas.

30 El agente quelante bifuncional elegido para conjugación al MAb anti-CD66 en este estudio fue ácido isotiocianatobencil-3-metil-dietilentriaminapentaacético (ITC-2B3M-DTPA). Un lote de MAb anti-CD66 se conjugó en condiciones GLP. En el producto se ensayó inmunorreactividad, esterilidad, nivel de endotoxina, eficacia de conjugación, eficacia de marcado y estabilidad *in vitro* con ¹¹¹In e ⁹⁰Y. En el anticuerpo conjugado se comprobó también multimerización por HPLC y pureza por electroforesis de gel SDS.

Las alícuotas de MAb BW 250/183 conjugado se congelaron en viales de dosis de pacientes únicas estériles. El MAb BW 250/183 conjugado tiene un número de lote y se proporcionó a cada vial un único número de identificación.

35 El MAb anti-CD66 conjugado se radiomarcó con actividad del marcador (aproximadamente 185 MBq) de ¹¹¹In adecuado para diagnóstico por la imagen. El RIC se administró como una única infusión intravenosa lenta. La farmacocinética del RIC se controló por muestreo de sangre en serie, recogida de orina continua y diagnóstico por la imagen de cuerpo total y de gamma-cámara SPECT, cuantitativo, en serie. Se calcularon las dosis de radiación para órganos específicos a partir de los datos de gamma-cámara planar y SPECT. Si la dosis de radiación estimada para la médula roja excede por 2 veces la dosis recibida por un órgano no hematológico entonces el paciente recibió una segunda infusión intravenosa del anticuerpo anti-CD66, marcado con la dosis terapéutica de ⁹⁰Y. La actividad de la radiación de partida de MAb anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y fue 5 MBq/kg de peso corporal.

Administración de Mab anti-CD66 marcado:

45 Para dosimetría/farmacocinética se infundieron 2 mg de MAb anti-CD66 radiomarcado. Se realizaron recogidas de muestras de sangre, formación de imágenes gamma y orina durante los siguientes 7 días. Si se demostraba biodistribución y dosimetría de órganos favorables se proporcionaba la segunda infusión intravenosa de 2 mg de RIC, marcada con una dosis terapéutica de ⁹⁰Y.

Todos los pacientes fueron tratados como pacientes externos para tanto diagnóstico por la imagen como dosis de radiación del tratamiento.

50

Parámetros del estudio:

- 1) La farmacocinética de MAb anti-CD66 marcado con ¹¹¹In cuando se determina a partir de muestras de sangre en serie, diagnóstico por la imagen con gamma-cámara planar y SPECT en serie de órganos seleccionados.
- 2) La toxicidad limitante de la dosis de MAb anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y (dosis de radiación).
- 5 3) La dosis máxima tolerada de radiación suministrada por Mab anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y.

Aumento de la dosis de ⁹⁰Y:

Hay cuatro niveles de dosis de radiación con cinco pacientes en cada nivel.

- | | | |
|----|--------------------------------|---|
| | 1 ^{er} nivel de dosis | 5 MBq/kg (peso corporal) |
| | 2 ^o nivel de dosis | 10 MBq/kg (peso corporal) |
| 10 | 3 ^{er} nivel de dosis | 20 MBq/kg (modificado a 25 MBq/kg de peso corporal magro) |
| | 4 ^o nivel de dosis | 30 MBq/kg (modificado a 37,5 MBq/kg de peso corporal magro) |

- La dosis de ⁹⁰Y para cada paciente en los primeros 2 niveles se determinó usando peso corporal "real". Para reducir la variación de la dosis entre pacientes (debido a extremos de peso corporal), se realizó un protocolo modificado: para los niveles de dosis 3 y 4 el protocolo se modificó para usar peso corporal "magro". En paralelo el 3^{er} nivel de dosis se cambió a 25 MBq por kg de peso corporal magro, el 4^o nivel de dosis como 37,5 MBq por kg de peso corporal magro.

Planes de acondicionamiento:

- Se determinaron planes de acondicionamiento por los indicios de la enfermedad subyacente y el tipo de trasplante (autólogo, alogénico). La mayoría de los pacientes (10 de 12) recibieron melfalán a alta dosis como tratamiento para mieloma, dos pacientes (pacientes 8 y 9) debieron experimentar trasplantes alogénicos de hermanos completamente igualados para leucemia mieloide aguda de escaso riesgo. Se usó radioinmunotratamiento diana usando anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y además del acondicionamiento de trasplante planeado.

Trasplante de hemocitoblastos autólogos:

Para pacientes que recibieron MAD (200 mg por m² de superficie) se usó el siguiente plan:

ACCIÓN	TIEMPO
Formación de imágenes y dosimetría (MAb anti-CD66 marcado con ¹¹¹ In)	Día -21 (intervalo -21 a -20)
Infusión intravenosa de la dosis terapéutica de MAb anti-CD66 marcado con ⁹⁰ Y	Día - 14
Revisión de paciente	Día - 8
Infusión intravenosa de MAD	Día - 2
Infusión intravenosa de hemocitoblastos	Día 0

Trasplante alogénico:

Para pacientes que recibieron trasplantes alogénicos se usó el siguiente plan:

ACCIÓN	TIEMPO
Formación de imágenes y dosimetría (MAb anti-CD66 marcado con ¹¹¹ In)	Día -21 (intervalo -21 a -20)

(continuación)

ACCIÓN	TIEMPO
Infusión intravenosa de la dosis terapéutica de MAb anti-CD66 marcado con ^{90}Y	Día - 14
Admisión de paciente para plan de acondicionamiento "patrón "**	Día - 9
Acondicionamiento "patrón "	Día - 8 a Día - 1
Infusión intravenosa de hemocitoblastos alogénicos	Día 0

* los pacientes 8 y 9 recibieron los dos planes de acondicionamiento de baja intensidad que consistían en: fludarabina, ciclofosfamida y Campath 1H (paciente 8) o fludarabina, melfalán y Campath 1H (paciente 9). Se usó radioterapia diana además de los planes de acondicionamiento establecidos.

Métodos:

- 5 1) Efecto de radiación administrada en recuentos sanguíneos.
- 2) Curvas de actividad en sangre.
- 3) Biodistribución de MAb anti-CD66 radiomarcado.
- 4) Dosimetría de órganos.
- 5) Post-infusión intravenosa de toxicidad de MAb anti-CD66 marcado con ^{90}Y .
- 10 1. Efecto de anticuerpo radiomarcado administrado en recuentos en sangre periférica:
- Se tomaron muestras de sangre para recuento sanguíneo completo y preinfusión intravenosa diferencial de glóbulos blancos y postinfusión intravenosa el día 7 de MAb anti-CD66 marcado con ^{111}In ; pre-infusión intravenosa y post-infusión intravenosa los días 7 y 12 de MAb marcado con ^{90}Y . Los resultados de los PBC de recuento de glóbulos blancos totales (Figura 1), recuento de neutrófilos (Figura 2) y recuento de plaquetas (Figura 3) después de MAb anti-CD66 marcado con ^{90}Y se muestran en las Figuras 1-3 para niveles de dosis de ^{90}Y de 5 MBq/kg, 10 MBq/kg, 25 MBq/kg y 37,5 MBq/kg, respectivamente.
- 15
2. Curvas de actividad en sangre para MAb anti-CD66 marcado con ^{111}In :
- Se tomaron muestras de sangre completa pre-infusión intravenosa, inmediatamente al final de la infusión intravenosa (T=0) y 1, 2, 3, 4 horas y diarias hasta post-infusión intravenosa el día 7. Se recogió un total de 7-9 muestras de cada paciente. Se determinó la actividad gamma en alícuotas de 1 ml por triplicado, se analizaron todas las muestras el mismo día con patrones de ^{111}In . Se representó gráficamente una curva patrón y se convirtió la actividad gamma en actividad de ^{111}In de las muestras de sangre usando la curva patrón. Los resultados se expresaron como porcentaje de dosis inyectada (% DI) y se representó gráficamente frente al tiempo en horas post-infusión intravenosa. Los volúmenes de sangre totales circulando para cada paciente procedieron de tablas patrón (Hurley). La semivida inmediata y la semivida tarde ($T_{1/2\alpha}$ y $T_{1/2\beta}$, respectivamente) de actividad de ^{111}In procedían de las curvas. Los resultados se muestran en la Figuras 4a y 4b.
- 20
- 25
3. Biodistribución de MAb anti-CD66 radiomarcado:
- Se determinó la fijación como diana y la biodistribución de órganos de MAb marcado con ^{111}In infundido a partir de imágenes gamma de cuerpo total en serie tomadas el día de la infusión intravenosa (día 1) y los días 2, 3, 6 y 7 posteriores. Se usó una gamma-cámara de doble cabezal (Genesys ADAC) con ventanas ajustadas para los niveles de energía de fotones gamma de ^{111}In del pico característico. Se calibró la cámara para cada paciente usando un patrón con una actividad conocida de ^{111}In . La Figura 5 muestra imágenes de cuerpo total anteriores y posteriores tomadas 24 horas después de infusión intravenosa para el paciente 4.
- 30
4. Dosimetría de órganos:
- 35 Para investigaciones de dosimetría, los pacientes recibieron aproximadamente 185 MBq de MAb anti-CD66 marcado con ^{111}In por infusión intravenosa durante 15 minutos. Se obtuvieron imágenes de cuerpo total anteriores y posteriores los días 1, 2, 3, 6 y 7 después de inyección (día 1 = día de infusión intravenosa). A partir de las imágenes de cuerpo total, se valoró el modelo de distribución de actividad y la eliminación. Las curvas tiempo-actividad para el

cuerpo total se compararon con actividad sanguínea.

Se obtuvieron estudios SPECT los días 1, 2 y 6 ó 7; SPECT del tórax y pelvis proporcionó imágenes de sitios anatómicos de todos los órganos importantes (hígado, pulmones, riñones, médula roja, bazo). Una imagen de barrido SPECT típica se muestra en la Figura 6.

- 5 Se calculó dosimetría de órganos a partir de cuantificación de imágenes SPECT reconstruidas. Los recuentos en las imágenes se convirtieron en actividad usando factores de conversión de mediciones de objetos de ensayo (espectro de Carlson).

10 Se representaron gráficamente curvas tiempo-actividad y la actividad acumulada se calculó a partir de la absorción a tiempo cero U_0 y constante de eliminación eficaz Δ_{eff} como $\text{Acum} = U_0/\Delta_{\text{eff}}$ según el esquema MIRD (Sociedad de Medicina Nuclear). La dosis absorbida D en Gy (Gray) se obtuvo multiplicando actividad acumulada por valores de S apropiados (dosis media por unidad de actividad acumulada) (MIRDOSE 3) como $D = \text{Acum} \times S$.

15 Para órganos grandes tales como el hígado, donde la distribución de actividad es relativamente homogénea, fue suficiente usar recuentos medios en una región representativa de interés (RDI). La cuantificación precisa de la dosis de médula ósea estuvo afectada por la pérdida aparente de recuentos en regiones más pequeñas (efecto de volumen parcial). Esta corrección requerida usando coeficientes de recuperación obtenidos de experimentos con objetos de ensayo, de tamaños comparables para regiones del esqueleto que contienen médula roja. La estimación de la actividad de la médula total (y así dosis) de análisis de RDI implica el supuesto de la proporción de médula roja activa (fracción celular) en las muestras analizadas (obtenidas de muestras de biopsias cuando están disponibles) así como volumen total de médula roja activa. Esto se midió con escala según peso corporal magro a partir de datos de referencia para hombres y mujeres (Stabin 1.996).

20 Otro método para cálculo de dosimetría de órganos implicó el cálculo de la actividad total en regiones del esqueleto mayores - por ej., espina dorsal o pelvis. A partir de datos tabulados (por ej., referencia Man) se puede suponer el porcentaje de médula roja total en estas regiones y obtener la actividad de médula total. Esto no requiere el conocimiento de la fracción celular pero se debe suponer el volumen total de médula roja activa como anteriormente.

- 25 La Figura 7 muestra los barridos gamma de cuerpo total (sólo anterior), que indican la distribución de la radiación, durante los 5 días de formación de imágenes en el paciente 5.

La Figura 8 muestra la actividad de ^{111}In de cuerpo total durante el periodo de 7 días después de infusión intravenosa de anticuerpo marcado con ^{111}In como un gráfico semi-logarítmico a partir del cual se calculó la semivida biológica eficaz de la radiación.

- 30 5. Toxicidad post-infusión intravenosa de MAb anti-CD66 marcado con ^{90}Y .

Se recogieron datos de toxicidad y se registraron después de la administración de la dosis terapéutica de radiación diana, semanalmente hasta 1 mes post-trasplante, después cada mes hasta 3 meses post-trasplante. Se usaron criterios de Toxicidad NCIC.

Resultados:

- 35 Efecto de radioterapia diana de MAb anti-CD66 en recuentos sanguíneos:

40 Las Figuras 1, 2 y 3 muestran los resultados de recuento de glóbulos blancos, neutrófilos y plaquetas, de sangre periférica, respectivamente, pre y post-infusión intravenosa de MAb anti-CD66 marcado con ^{90}Y . La "semana 1" en las representaciones gráficas fue el día de infusión intravenosa, 'semana 2' 7 días posteriores y 'semana 3' 12 días posteriores y en el día de tratamiento con dosis alta. Los pacientes 8 y 9 recibieron acondicionamiento de baja intensidad previamente a trasplante alogénico (para LMA) y los resultados se censuraron el día 7, el principio del acondicionamiento de patrón. Es evidente a partir de estos resultados que la infusión intravenosa de anticuerpo radiomarcado se asoció a una caída notable en recuentos de glóbulos blancos totales, neutrófilos y plaquetas, que implica un efecto mielo-supresivo significativo de la radiación. La infusión intravenosa anterior del MAb anti-CD66 marcado con ^{111}In para diagnóstico por la imagen y dosimetría no dio como resultado ningún cambio de los componentes celulares en sangre periférica (datos no mostrados), que indica que la caída fue debida al efecto de la radiación beta en vez de el propio anticuerpo. También puede ser un efecto de la dosis sobre el grado de mielo-supresión, como se muestra por la velocidad de caída en recuentos y el punto más bajo del recuento. Es evidente que a dosis de radiación más alta los pacientes son neutropénicos antes de que se haya administrado quimioterapia estándar.

- 50 Actividad de ^{111}In en sangre completa:

Las Figuras 4a y 4b muestran las curvas tiempo-actividad en sangre para todos los pacientes. Las actividades en sangre representadas gráficamente muestran un modelo similar entre pacientes, una curva bifásica, consistente con la suma de dos funciones exponenciales. En cada paciente una rápida caída inicial en la actividad en sangre de ^{111}In (en 2 horas) fue seguida durante las siguientes 5-10 horas por una disminución más lenta. Después de 24 horas la

disminución de la actividad fue fuertemente más lenta, aproximándose a la semivida física del isótopo.

La rápida caída inicial tiene lugar al tiempo de la localización de actividad de la mezcla de sangre en la médula, como se muestra por imágenes gamma de cuerpo total en serie (Figura 7). A partir de las representaciones gráficas de tiempo-actividad tempranas (Figura 4b) la derivada $T_{1/2\alpha}$ fue 2,06 +/-0,96 horas (intervalo 0,9-3,4) y $T_{1/2\beta}$ 6,0 +/- 3,2 horas (intervalo 4,0-9,0). $T_{1/2\alpha}$ es una función de biodistribución inmediatamente después de infusión intravenosa y está influenciada por la accesibilidad del antígeno diana, avidez del anticuerpo y unión no específica (si es significativa). Los valores derivados para $T_{1/2\alpha}$ pueden ser mayores que los valores verdaderos ya que las muestras de sangre se tomaron en instantes de tiempo de sólo 1 hora inmediatamente post-infusión intravenosa. Para derivar un valor más preciso para $T_{1/2\alpha}$ se puede requerir que se tomen muestras con más frecuencia en las primeras 2 horas post-infusión intravenosa.

Biodistribución de MAb anti-CD66 radiomarcado.

La Figura 5 muestra las imágenes de gamma-cámara de cuerpo total, anteriores y posteriores, 24 horas después de infusión intravenosa del MAb marcado con ^{111}In (paciente 5). Se ve una imagen del esqueleto axial y huesos largos proximales, correspondiendo a los sitios de médula ósea activa. El bazo también está visible pero de observar sólo es evidente una imagen borrosa correspondiendo al hígado. Ni hay otros órganos visibles.

La Figura 6 es una imagen de barrido de SPECT tomada al nivel de un cuerpo vertebral torácico inferior. Las imágenes del cuerpo vertebral y el bazo se pueden observar claramente con fuerte actividad gamma asociada, como se indica por las flechas. También se puede ver una imagen borrosa del hígado. La cuantificación de la radiación gamma muestra una relación 4:1 de actividad entre la médula vertebral y el hígado. Esto no tiene en cuenta ningún efecto de volumen parcial, que es probable que reduzcan de manera artificial la cuantificación de radiación gamma para imágenes pequeñas tales como la médula vertebral, pero no se llevará a cabo la cuantificación de un órgano grande tal como el hígado.

La Figura 7 muestra las imágenes de cuerpo total de un paciente tomadas durante cinco días de formación de imágenes y dosimetría. Inmediatamente después de infusión intravenosa (imagen 1) se observó actividad en la mezcla de sangre (imagen del corazón), por 5 horas post-infusión intravenosa (imagen 2) se observó que la actividad había empezado a acumularse en la médula y el bazo. Durante los 5 días siguientes (imágenes 3, 4 y 5) la actividad queda predominantemente en la médula y el bazo aunque fue evidente un pequeño aumento en la actividad en el hígado por 128 horas. A partir de las imágenes secuenciales y la cuantificación de radiación gamma se calculó que la semivida biológica de ^{111}In era aproximadamente 50 horas. En este paciente, la imagen de la médula extendida por todos los huesos largos, se observó en particular un área de actividad aumentada en la rodilla derecha. Este paciente recibió un trasplante autólogo de hemocitoblastos después de melfalán a alta dosis como tratamiento para mieloma múltiple, estuvieron en un pre-trasplante de remisión parcial. El paciente experimentó dolor en la rodilla derecha que resolvió después de la infusión intravenosa de anticuerpo marcado con ^{90}Y . Un rayo X normal de la rodilla fracasó en demostrar alguna anomalía, sin embargo un barrido de MRI mostró la presencia de una lesión lítica pequeña. Esto sugirió la posibilidad de que el anticuerpo se estuviera acumulando no sólo en médula ósea normal sino también en sitios con infiltración de células plasmáticas pesadas. La posibilidad de que CD66, descrito como un marcador de células mieloides, se puede expresar mediante células plasmáticas maduras, se investigó por análisis FACS de aspirados de médula ósea tomados de pacientes con mieloma múltiple:

Demostración de expresión de CD66 en células plasmáticas malignas por citometría de flujo.

Se examinaron muestras de aspirado de médula ósea de diagnóstico de pacientes con mieloma múltiple sospechado por citometría de flujo multiparamétrica para demostrar y cuantificar células plasmáticas neoplásicas.

Se incubaron células de médula ósea lavadas con panel primario patrón de anticuerpos pre-valorados incluyendo una asociación de isotiocianato de fluoresceína de anti-CD19 (FITC) (Pharmacia), ficoeritrina anti-CD5 (PE) (en casa), proteína peridina clorofila anti-CD45 (PerCP) (Becton Dickinson) y aloficocianina anti-CD38 (APC) (Pharmacia). Después se trataron muestras con disolución de lisis para lisar eritrocitos en condiciones hipotónicas mientras se conservan los leucocitos, se lavaron dos veces y se adquirieron usando un FACSXCibur de Becton Dickinson con programa informático CELLQuest (BD Biosciences). Se adquirieron entre 20.000 y 100.000 casos y se analizaron por ensayo de muestras. Se usó una estrategia de sincronización para optimizar la exclusión de casos de contaminación tales como partículas celulares y cuerpos apoptóticos.

Las muestras de médula que mostraron que contenían una población negativa CD45 clara, negativa CD19, positiva CD38, consistente con la presencia de células plasmáticas, se volvieron a analizar después (nueva alícuota) con un panel de mieloma, que consistió en un APC anti-CD38, un PerCP anti-CD45 y PE anti-CD 138 (Diacclone) y el anti-CD66 (TheraPharm GmbH). Como el anti-CD66 era un anticuerpo desnudo (IgG₁ de murina), esto se añadió a la muestra para el analista del panel de mieloma primero, se lavó tres veces, después se incubó con fragmento de IgG F(ab')₂ anti-ratón de oveja conjugado a FITC (Pharmacia), se lavó de nuevo tres veces. Después se analizaron las muestras usando anticuerpos de panel de mieloma (APC anti-CD38, PerCP anti-CD45; PE anti-CD 138). De nuevo, se adquirieron entre 20.000 y 100.000 casos y se analizaron por muestra. Se obtuvieron células positivas CD66 con CD38 o CD138.

Se han analizado muestras para diagnóstico de 12 pacientes con mieloma múltiple y se encontró que todos (100 %) tenían células plasmáticas dobles positivas CD138/CD38 que co-expresaron CD66 con intensidad variable.

La Figura 9 muestra representaciones gráficas FACs representativas para 3 pacientes diferentes. Los controles negativos en que no se añadió el MAb anti-CD66 no mostraron casos obtenidos de FITC.

- 5 La médula ósea de un individuo normal se examinó también y se encontró que contenía células plasmáticas que co-expresaron CD19, CD138, CD38 y CD66 (datos no mostrados).

Dosimetría de órganos:

10 La Tabla 1 muestra la dosis de radiación estimada suministrada a la médula ósea, hígado y bazo expresado como miliGray (mGy) por megaBequerel (MBq) de MAb anti-CD66 marcado con ^{90}Y infundido y como Gray (Gy). La actividad total de ^{90}Y infundido para cada paciente individual se muestra en la segunda columna. En este contexto, se observa una relación lineal entre la dosis de radiación administrada y la dosis suministrada a la médula ósea, como se puede derivar de la representación gráfica de la Figura 10. Este resultado, por otra parte, sugiere la posibilidad de dosificar a los pacientes individuales a partir de una imagen gamma temprana única en el futuro.

15 En la Tabla 2 se muestra la dosis de radiación media como mGy/MBq y la dosis total media en Gy. La absorción de anticuerpo radiomarcado por la médula mostró un alto grado de consistencia entre pacientes, con una media de 9,94 +/- 1,2 mGy/MBq (intervalo 7,7-11,8 mGy/MBq). La absorción por el hígado y el bazo mostró una variación más amplia entre pacientes, 3,33 +/- 1,7 mGy/MBq (intervalo 1,56-6,53) para el bazo y 1,4 +/- 1,24 mGy/MBq (0,705-4,99) para el hígado. La dosis de radiación total suministrada a la médula ósea presenta una relación lineal para la actividad de ^{90}Y total infundida por las dosis usadas. Las dosis de radiación medias para el hígado fueron 20 sustancialmente menores que la recibida por la médula ósea o el bazo. Además, las dosis de radiación estimadas para otros órganos tales como el pulmón, riñones, músculo, intestino fueron todas significativamente menores que el hígado, que parece ser el órgano no hematopoyético que demostró absorción significativa del anticuerpo marcado.

25 La consistencia entre pacientes individuales y la relación lineal entre actividad total de ^{90}Y infundida y dosis de radiación de la médula ósea puede permitir la simplificación de la formación de imágenes y el plan de dosimetría en el futuro.

Toxicidad:

Infusión intravenosa de RIC: No se observaron efectos adversos durante la infusión intravenosa de Mab anti-CD66 marcado con ^{111}In o marcado con ^{90}Y . Los efectos secundarios típicos para ITC asociada a tejidos no hematológicos tales como náuseas agudas, vómito, fatiga, pérdida de pelo y disfunción del órgano endocrino están ausentes.

30 *Post-radioinmunoterapia diana:* No se observaron efectos adversos o toxicidad después de la infusión intravenosa del anticuerpo marcado con ^{111}In . En todos los pacientes, se observó toxicidad hematológica de grado 1-4, como se indicó por una caída en los recuentos de sangre periférica, por el día 12 después de infusión intravenosa del anticuerpo marcado con ^{90}Y . Hubo una tendencia a aumentar el grado de toxicidad hematológica con la actividad total de ^{90}Y infundido. Un paciente experimentó toxicidad en el intestino de grado 2 transitoria en la forma de diarrea, 35 los restantes 11 pacientes no experimentaron otros problemas desde el momento de la infusión intravenosa hasta el principio del acondicionamiento del trasplante tradicional.

40 La toxicidad del órgano observada después de terapia de acondicionamiento tradicional y post-trasplante de hemocitoblastos, se resume en la Tabla 3. Como se esperaría para los pacientes que recibieron terapia de acondicionamiento para trasplante de hemocitoblastos, todos los pacientes experimentaron toxicidad hematológica de > grado 3. La toxicidad gastrointestinal fue comparable a la causada por acondicionamiento de trasplante tradicional, en particular la causada por melfalán a alta dosis. Un paciente (paciente 5) desarrolló fibrilación auricular asintomática en el cuarto día después de infusión intravenosa de hemocitoblastos, el potasio en suero fue bajo en ese momento. Se encontró con posterioridad que tenían pruebas bioquímicas de hipertiroidismo con una T4 elevada y TSH baja. El paciente recibió bloqueo beta y reversionó a ritmo sinusal en 48 horas. La función tiroidea se 45 normalizó sin tratamiento adicional en cuatro semanas. Un segundo paciente, que recibió radioterapia diana como parte de acondicionamiento de baja intensidad para un trasplante alogénico (fludarabina, melfalán) experimentó un aumento rápido en bilirrubina en la segunda semana después de trasplante alogénico. La bilirrubina volvió al intervalo normal después de retirada de noretisterona e itraconazol.

Prendimiento

50 El tiempo para recuperar los recuentos de glóbulos blancos totales, neutrófilos y plaquetas en sangre periférica se resume en la Tabla 4. En 18/20 pacientes se consiguió prendimiento total y en los periodos de tiempo previstos. En un paciente (paciente 7) se proporcionó una dosis de células positivas CD34 sub-óptima dando como resultado prendimiento de neutrófilos y plaquetas retardado. Este paciente había recaído después de un trasplante de hemocitoblastos autólogo más temprano para mieloma y recibió un segundo trasplante con radioterapia diana 55 además de melfalán a alta dosis. Un segundo paciente tuvo prendimiento parcial por el día 100 llegando a ser la transfusión independiente por el día 20. En este paciente había sido difícil movilizar los hemocitoblastos de sangre

periférica y la transfusión de células autólogas había requerido 2 días para completarse. Esto habrá contribuido al retraso en la recuperación del recuento de células. 19/19 pacientes han tenido aspirados de médula ósea realizados el día 100 post-trasplante, todos menos 1 fueron normocelulares.

- 5 No se han observado fracasos de injerto tardíos en este grupo de pacientes con seguimiento entre 3-24 meses. El análisis químérico para pacientes que recibieron trasplantes alogénicos (pacientes 8, 9, 13 y 14) mostró prendimiento de donante completo por el día 30 post-trasplante, todos han permanecido donantes totalmente y están en remisión completa (seguimiento 18-24 meses).

Respuestas clínicas

- 10 Aunque el principal objetivo de este estudio es evaluar la farmacocinética, biodistribución y toxicidad de MAb anti-CD66 radiomarcado, las respuestas clínicas tendrán seguimiento además.

El primer paciente (001) para este estudio empezando con nivel de radiación 1 recibió RIC como parte de acondicionamiento de trasplante en marzo de 2.001 – el último paciente (020) a nivel de radiación 4 se trató en octubre de 2.005. El tiempo de seguimiento deseado es hasta 1 año para valoración de la toxicidad y 3 años para respuesta de la enfermedad.

- 15 Los primeros resultados indican el tratamiento altamente eficaz esperado de RIC con respecto a la supervivencia sin evolución y la supervivencia total. Los resultados intermedios de un seguimiento en mayo de 2.005 se presentan en la Tabla 5. Los resultados sugieren que las dosis de radiación mayores que 25 MBq/kg de peso corporal pueden inducir un alto índice de remisiones completas en pacientes de mieloma múltiple.

- 20 Sin embargo, la eficacia clínica con respecto a supervivencia sin evolución y supervivencia total en enfermedades hematológicas será el foco de ensayos clínicos posteriores.

Conclusiones:

- 1) No se asoció toxicidad con infusión intravenosa de Mab anti-CD66 marcado con ¹¹¹In o marcado con ⁹⁰Y.
- 2) Sin aumento en toxicidad post-trasplante sobre los esperados después de acondicionamiento para trasplante de hemocitoblastos. Un paciente experimentó aumento transitorio en la actividad tiroidea con fibrilación auricular asociada. El paciente llegó a tener con posterioridad hipotiroidismo.
- 25 3) Todos los pacientes injertados, 13 de 14 con tiempo promedio para prendimiento igual en cuanto a los pacientes que experimentan trasplantes de hemocitoblastos tradicionales. Dos pacientes tuvieron recuperación retardada de neutrófilos y plaquetas, posiblemente relacionada con dosis de células CD34 baja disponible para trasplante. No hubo toxicidad tardía o fracasos de médula retardados con un seguimiento de 3-36 meses (media 18 meses).
- 30 4) Se observó una excelente fijación como diana de médula ósea en 20 de 21 pacientes. Un paciente tuvo absorción del hígado significativa y baja fijación como diana de la médula, pero aún mayor que el hígado y recibió tratamiento. En la revisión la médula ósea en este paciente sólo tuvo 5-10% de celularidad, que indica la causa probable para la razón BM a hígado inferior. El segundo paciente tuvo dosimetría límite y no recibió radioterapia fijada como diana pero fue sobre un trasplante tradicional.
- 35 5) La dosimetría de órganos mostró una distribución de la dosis muy favorable, recibiendo la médula ósea dosis de radiación estimada entre 4-10 veces mayor que el hígado. Estos resultados obtenidos con el MAb anti-CD66 se comparan de manera favorable con otros vectores de radioterapia diana publicados tales como anti-CD33 o anti-CD45.
- 6) La dosis de radiación máxima tolerada suministrada por el MAb anti-CD66 no se ha alcanzado.

- 40 Discusión:

Resultados del estudio del aumento de la dosis.

- Los resultados del estudio resumido anteriormente indican que el MAb anti-CD66 es muy tolerado y presenta la capacidad para suministrar dosis de radiación en exceso de 4-10 veces a la médula ósea comparado con el hígado. También se suministró radiación significativa al bazo. No se observó toxicidad significativa adicional en los pacientes
- 45 tratados hasta la fecha. Los recuentos de leucocitos y plaquetas en sangre periférica cayeron significativamente después de la dosis terapéutica de radiación diana, en particular en el nivel de dosis más alto, que indica un efecto mielosupresivo definido. La mayoría de los pacientes que ha recibido la dosis de radiación más alta hasta la fecha experimentó periodos totales más largos de neutrocitopenia durante su trasplante, ya que ya eran neutrocitopénicos antes de recibir tratamiento con dosis alta. Esto puede requerir el uso más temprano de antimicrobianos profilácticos. El uso de radioterapia diana no pareció afectar desfavorablemente al prendimiento posterior de hemocitoblastos, autólogos o de origen donante. No se han observado fracasos de la médula tardíos.
- 50

En los dos pacientes que han recibido trasplantes de hemocitoblastos de hermanos para LMA de poco riesgo

usando radioterapia diana como parte de plan de acondicionamiento de baja intensidad, se consiguió quimerismo completo del donante el día 30 post-trasplante. De manera similar, los dos pacientes que han experimentado trasplantes alogénicos (hermanos) para mieloma múltiple están en remisión completa de la enfermedad 2 años después de que recibieron RIC como parte de su acondicionamiento del trasplante.

- 5 La DMT de radiación aún no se ha conseguido. Sin embargo, en el nivel de dosis final (37,5 MBq/kg) se fijaron límites de dosis de radiación máxima de 12 Gray para el hígado y 35 Gray para la médula ósea. Las dosis de radiación absorbida estimadas suministradas a la médula en el cuarto nivel de dosis, 17-30 Gy, ya están en exceso del proporcionado por radioterapia de haz externo (ITC).

Selección de CD66 como el antígeno diana.

- 10 CD66 es un miembro de la familia de células mieloides de proteínas de membrana y protoplasma, siendo sólo CD66e un miembro de la familia del antígeno carcinoembrionario (ACE) de proteínas de membrana que es un miembro de la superfamilia de la inmunoglobulina de los receptores (Beauchemin N. et al., Exp Cell Res., 1.999, 252: 243-249). El antígeno "CD66" consiste realmente en diversas glicoproteínas relacionadas estructuralmente, CD66a-f, cuatro de las cuales (CD66a-d) se expresan por neutrófilos. Los miembros de la agrupación de CD66
 15 tienen también otras denominaciones - CD66a también se denomina glicoproteína biliar (GPB) o molécula-1 de adhesión celular (CEACAM-1); CD66b como CGM6, antígeno 95 de reacción cruzada no específica (NCA95) o CEACAM-8; CD66c como NCA50/90 o CEACAM-6; CD66d como CGM1 o CEACAM-3. Teniendo en cuenta los miembros de la agrupación ACE no presentes en tejido hematopoyético, CD66e o ACE y CD66f como la glicoproteína específica del embarazo.
- 20 Estructuralmente los miembros de la agrupación CD66 contienen un dominio amino-terminal de 108-110 aminoácidos homólogos al dominio variable de la inmunoglobulina, seguido por un número variable (0-6) de dominios relacionados con Ig C2.

- Se piensa que los miembros de la familia CD66 actúan como moléculas de adhesión celular que interactúan con E-selectina, galectinas y fimbriae tipo 1 de *Escherichia coli* (Skubitz K. M. et al., J Biol Regul Homeost Agents, 1.999, 13: 240-251).

- Los antígenos a-d CD66 se expresan en células mieloides normales de la fase promielocito por neutrófilos maduros. También se aumentan por señales de activación de neutrófilos. La expresión sobre blastos leucémicos mielógenos agudos es deficiente expresando sólo 6,8% de blastos de LMA que expresan antígenos de CD66. Sin embargo, el 66,7% de los blastos LLA de linaje B expresó anormalmente antígenos CD66 (Carrasco M. et al, Ann Hematol, 2.000, 79: 299-303). El análisis FACS de muestras de médula ósea de pacientes con mieloma múltiple demuestra expresión la expresión de CD66 por células plasmáticas en la mayoría de los pacientes. Además, un paciente en el estudio de fase I mostró absorción focal de anticuerpo marcado con ¹¹¹In en un sitio de una lesión lítica (imágenes en el informe de estudio cerrado).

- Así, como vector potencial para radioinmunoterapia diana para mieloma múltiple, será eficaz MAb BW 250/183 para inducir no sólo remisión en médula ósea sino también puede enfermedad focal diana, incluyendo sitios extramedulares. La capacidad para que se una el MAb anti-CD66 a células plasmáticas *in vitro* e *in vivo* se evaluará además en un estudio de fase II.

- Los resultados del estudio de fase I del aumento de la dosis han mostrado que se pueden suministrar dosis significativas de radiación a la médula ósea y al bazo por el MAb anti-CD66 (BW 250/183), dos a cinco veces el del órgano no hematopoyético más próximo (hígado). Además, no se observó absorción significativa por otros tejidos que expresan antígenos ACE (intestino, epitelio). Estos resultados son consistentes con los publicados por el grupo Ulm usando un MAb anti-CD66 similar con una diferencia significativa: en la serie Ulm la absorción renal de radiación fue alta desarrollando el 17% de los pacientes toxicidad renal retardada. Esto fue debido al uso de la molécula fuertemente reducida de Mab anti-CD66 y debido a la selección de renio-188 (¹⁸⁸Re) altamente electronegativo como el radionúclido terapéutico (Bunjies D. et al., Blood, 2.001, 98: 565-572). La explicación más probable para la toxicidad renal es que el inmunoconjugado de ¹⁸⁸Re era inestable *in vivo*, sin ¹⁸⁸Re acumulado en el parénquima renal que da como resultado mayores dosis de radiación para estos órganos. En nuestra experiencia usando anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y, no hay absorción renal significativa de radiación y ningún paciente ha desarrollado deficiencia renal.

- Además, el procedimiento de tratamiento personalizado que consiste en un uso posterior de MAb anti-CD66 marcado con ¹¹¹In para diagnóstico por la imagen y cálculo exacto de dosimetría de ⁹⁰Y ajustada al peso corporal magro seguido por MAb anti-CD66 marcado con ⁹⁰Y para acondicionamiento de médula ósea permite un tratamiento optimizado de cada paciente individual que garantiza alta eficacia en no toxicidad adicional.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un radioinmunoconjugado terapéutico (RIC) para la fabricación de un medicamento para administración en el tratamiento de mieloma múltiple (MM), en el que el RIC terapéutico comprende un anticuerpo BW 250/183 de unión a CD66 o un fragmento del mismo y un radionúclido, que está unido al anticuerpo BW 250/183 de unión a CD66 o un fragmento del mismo vía un agente quelante, en el que el radionúclido es un radionúclido terapéuticamente activo.
2. El uso según la reivindicación 1, en el que el radionúclido terapéuticamente eficaz es itrio-90 (⁹⁰Y).
3. El uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que previamente a la administración de dicho RIC terapéutico, se administra preferiblemente un RIC que comprende un radionúclido para diagnóstico por la imagen ligado a un anticuerpo BW 250/183 o un fragmento del mismo y en el que el anticuerpo BW 250/183 de unión a CD66 o fragmento del mismo del RIC para diagnóstico por la imagen y el RIC terapéutico es idéntico.
4. El uso según la reivindicación 3, en el que el radionúclido para diagnóstico por la imagen es indio-111 (¹¹¹In).
5. El uso según la reivindicación 1, en el que la determinación de una dosis terapéuticamente eficaz del RIC terapéutico previamente a administración comprende un cálculo basado en datos recogidos de pacientes.
6. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el agente quelante está ligado mediante enlaces covalentes al anticuerpo BW 250/183 de unión a CD66 o fragmento del mismo.
7. El uso según la reivindicación 1 ó 6, en el que el radionúclido está ligado al anticuerpo BW 250/183 de unión a CD66 o fragmento del mismo vía una estructura de la fórmula:

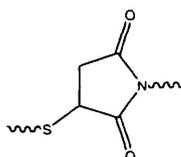


en la que n es 0 ó 1,

m es 1 a 15,

p es 0 ó 1,

R¹ y R³ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: -NHCSNH-, -NHCONH-, -NHCOCH₂S-, -S-S-, -NH-NH-, -NH-, -S-, -CONHNH-, -SCH₂CH₂COONH-, -SCH₂CH₂SO₂-, -SCH₂CH₂SO₂NH-, -CONH-, -O-CH₂CH₂O-, -CO-, -COO-, -NH-O-, -CONHO-, -S- (CH₂)₃C(NH)NH-, -NH-COO-, -O- y



, y

R² se selecciona del grupo que consiste en: alquileo C1-C18, C1-C18 ramificado, -CH₂-C₆H₁₀-, *p*-alquilfenileno, *p*-fenileno, *m*-fenileno, *p*-alquioxifenileno, naftileno, -[CH₂CH₂O]_x-, -[CH₂CH₂SOCH₂CH₂]_x-, -[CH₂CH₂SO₂CH₂CH₂]_x- o -[NHCHR₄CO]_y-, en la que x es 1 a 200, y es 1 a 20 y en la que R₄ se selecciona del grupo que consiste en: H-, Me-, HSCH₂-, isopropilo, but-2-ilo, CH₃SCH₂CH₂-, bencilo, 1H-indol-3-il-metilo, HOCH₂-, HOOCCH₂-, CH₃CH(OH)-, HOOCCH₂CH₂-, 4-hidroxibencilo, H₂NCOCH₂-, H₂NCOCH₂CH₂-, 4-aminobut-1-ilo, 2-guanidinoetilo, 1H-imidazol-5-il-metilo y 2-metilprop-1-ilo.

8. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 6-7, en el que el agente quelante se selecciona del grupo que consiste en: ácido dietilenotriaminopentaacético (DTPA), ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA), ácido 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-N,N,N'',N'''-tetraacético (TETA), ácido 1,4,7-triazonano-N,N',N''-triacético (NOTA), ácido 2,2'-(2-(((1S,2S)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético (ciclohexano-DTPA), ácido 2,2'-(2-(((1R,2R)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(2-(((1S,2R)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-(2-(((1R,2S)-2-(bis(carboximetil)amino)ciclohexil)-(carboximetil)amino)etilazanodiil)diacético, ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1S,2S)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodiil)bis(etano-2,1-diil)bis(azanotriil)tetraacético, ácido 2,2',2'',2'''-(2,2'-(1S,2R)-ciclohexano-1,2-diilbis((carboximetil)azanodiil)bis(etano-2,1-diil)bis(azanotriil)tetraacético, ácido (1R)-1-bencil-dietilenotriaminopentaacético, ácido (1S)-1-bencil-dietilenotriaminopentaacético, ácido (2R)-2-bencil-dietilenotriaminopentaacético, ácido (2S)-2-bencil-dietilenotriaminopentaacético, (2R)-2-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(4R)-4-

metil-DTPA, (2R)-2-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (2S)-2-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(3S)-3-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(3R)-3-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, (1R)-1-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(4S)-4-metil-DTPA, (1S)-1-bencil-(4R)-4-metil-DTPA, ácido 2,2'-((1R,2R)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2S)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2R)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2S)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2S)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2R)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1S,2R)-2-(((R)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido 2,2'-((1R,2S)-2-(((S)-2-(bis(carboximetil)amino)-3-fenilpropil)(carboximetil)amino)ciclohexilazanodiil)diacético, ácido (2S)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido (2R)-2-bencil-1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 6-bencil-1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano-N,N',N'',N'''-tetraacético, ácido 2-bencil-1,4,7-triazonano-N,N',N''-triacético y derivados de los mismos.

9. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 6-8, en el que el agente quelante es ácido isotiocianato-bencil-3-metil-dietilenotriaminopentaacético (ITC-2B3M-DTPA).

10. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para la administración del RIC terapéutico en una dosis de \geq aproximadamente 10 MBq/kg de peso corporal (pc), preferiblemente de \geq aproximadamente 15 MBq/kg de pc, más preferiblemente de \geq aproximadamente 20 MBq/kg de pc, aún más preferiblemente de \geq aproximadamente 25 MBq/kg de pc, aún más preferiblemente de \geq aproximadamente 30 MBq/kg de pc y aún más preferiblemente de \geq aproximadamente 35 MBq/kg de pc.

11. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el tratamiento de mieloma múltiple (MM) comprende además administrar un agente antitumor, un agente inmunosupresivo y/o trasplante de hemocitoblastos, en el que el agente antitumor se selecciona preferiblemente de melfalán a alta dosis (MAD), melfalán a baja dosis (MBD) o una asociación de melfalán a alta dosis (MAD) o melfalán a baja dosis (MBD) con otros agentes antitumor adecuados.

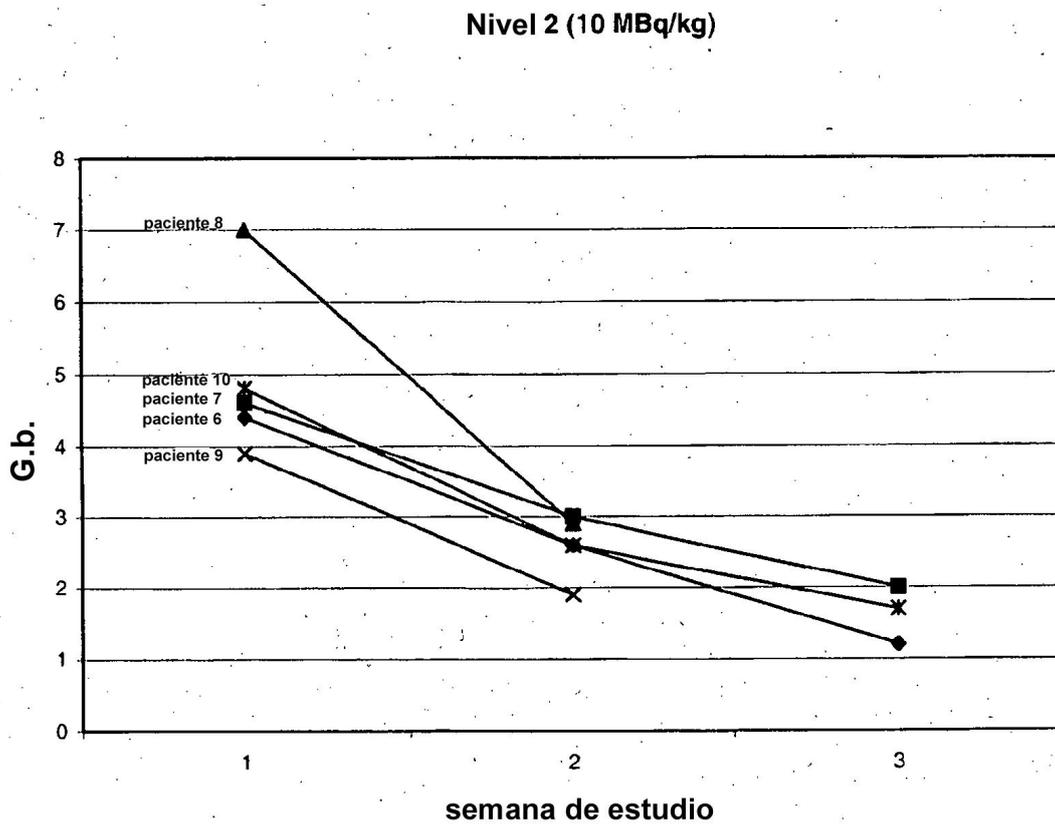
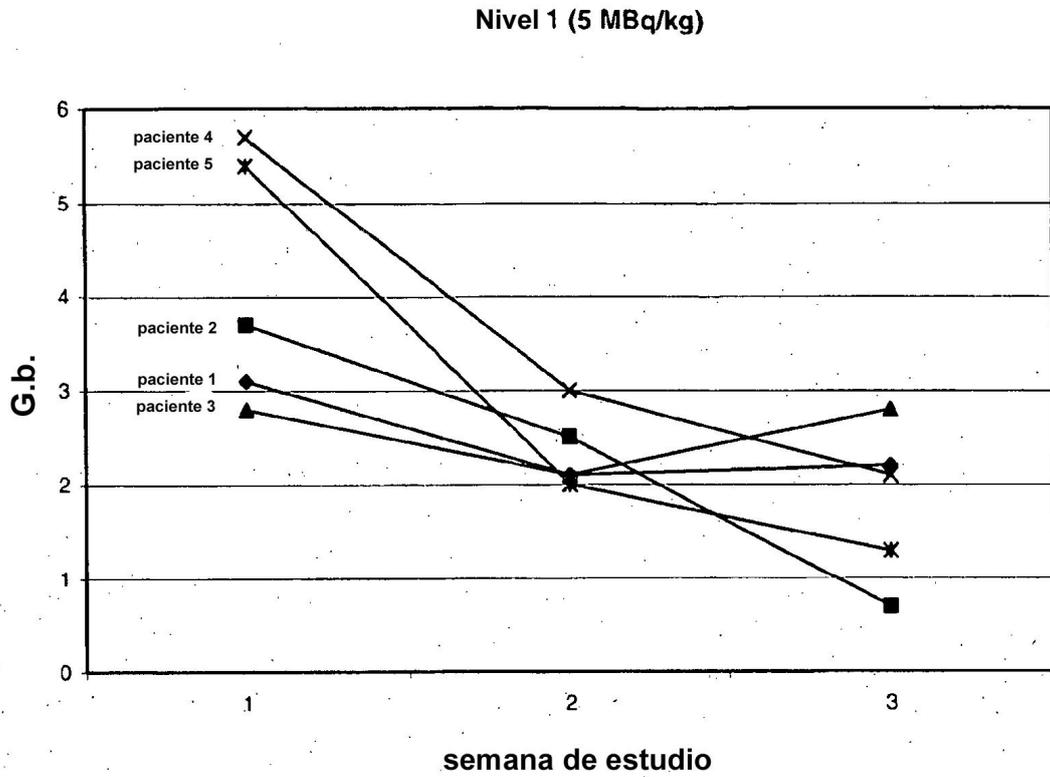
12. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el tratamiento de mieloma múltiple (MM) comprende las etapas:

- (a) administrar un RIC para diagnóstico por la imagen al paciente;
- (b) administrar el RIC terapéutico al paciente;
- (c) administrar al menos un agente antitumor y/o un agente inmunosupresivo al paciente y
- (d) trasplante de hemocitoblastos autólogos o alogénicos.

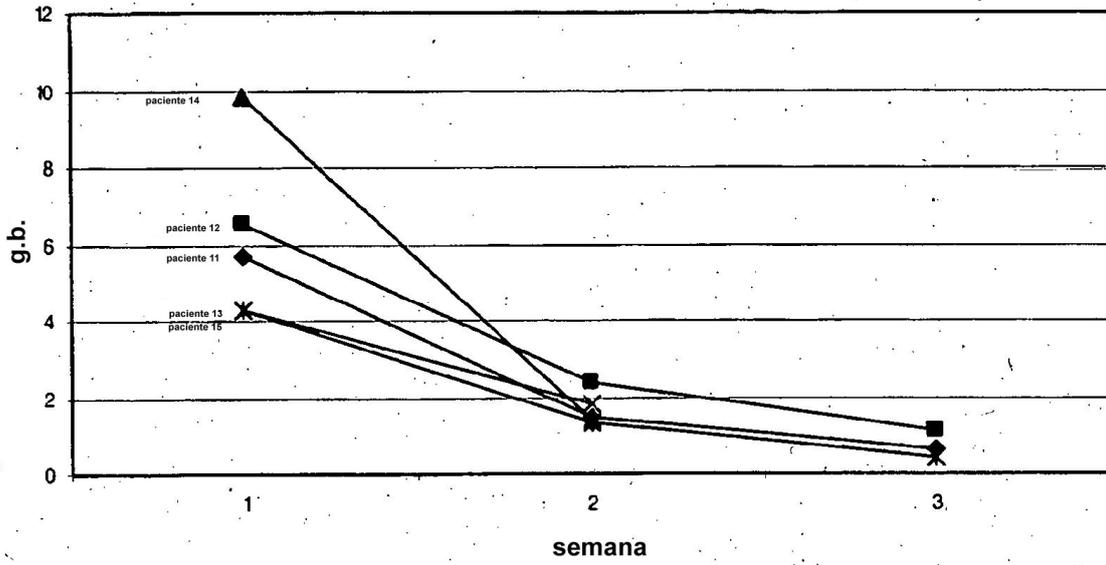
13. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 -12 para administración de:

- (i) el RIC del anticuerpo BW 250/183 con ^{111}In ,
- (ii) el RIC del anticuerpo BW 250/183 con ^{90}Y ,
- (iii) opcionalmente al menos un agente antitumor y/o un agente inmunosupresivo y
- (iv) opcionalmente trasplante de hemocitoblastos.

Figura 1. Recuento de glóbulos blancos pre y post anti-CD66 marcado con Y-90.



G.b. pre y post MAb anti-CD66 marcado con Y-90
Nivel 3 de dosis (25 MBq/kg)



Recuento de leucocitos pre y post anticuerpo anti-CD66 marcado con Y-90
 nivel 4 de dosis 37,5 MBq/kg pc

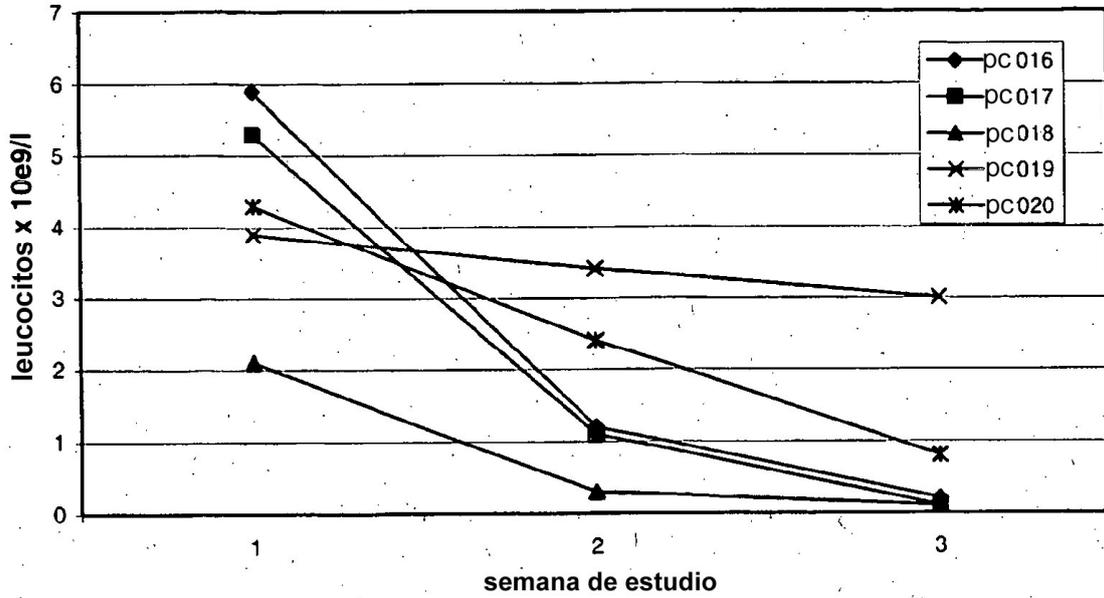
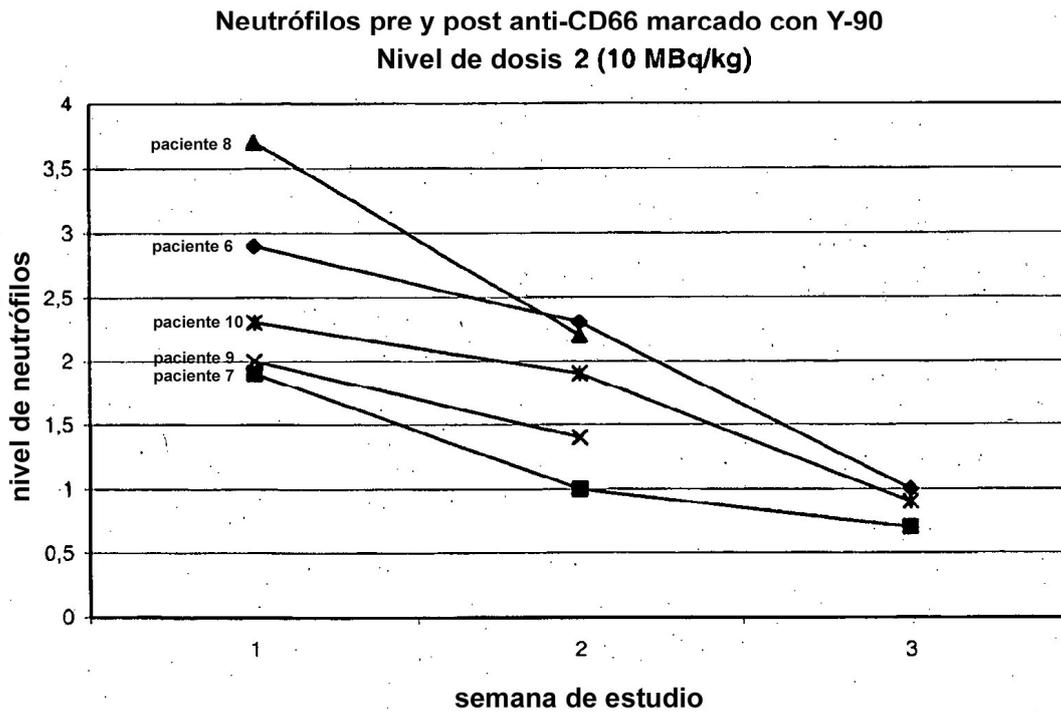
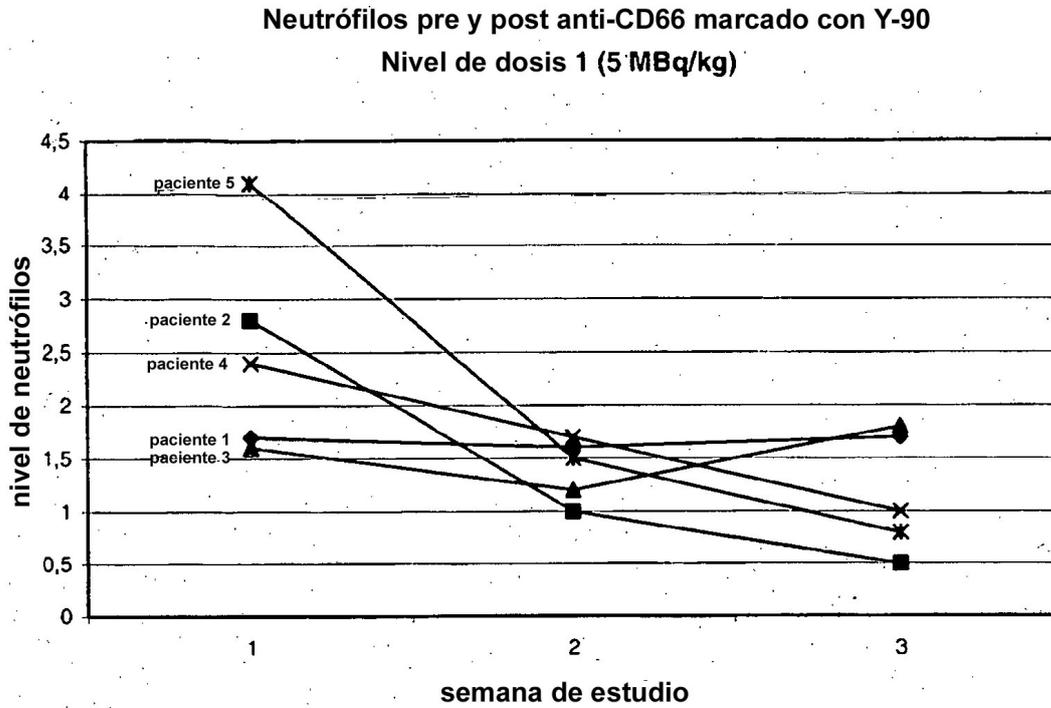
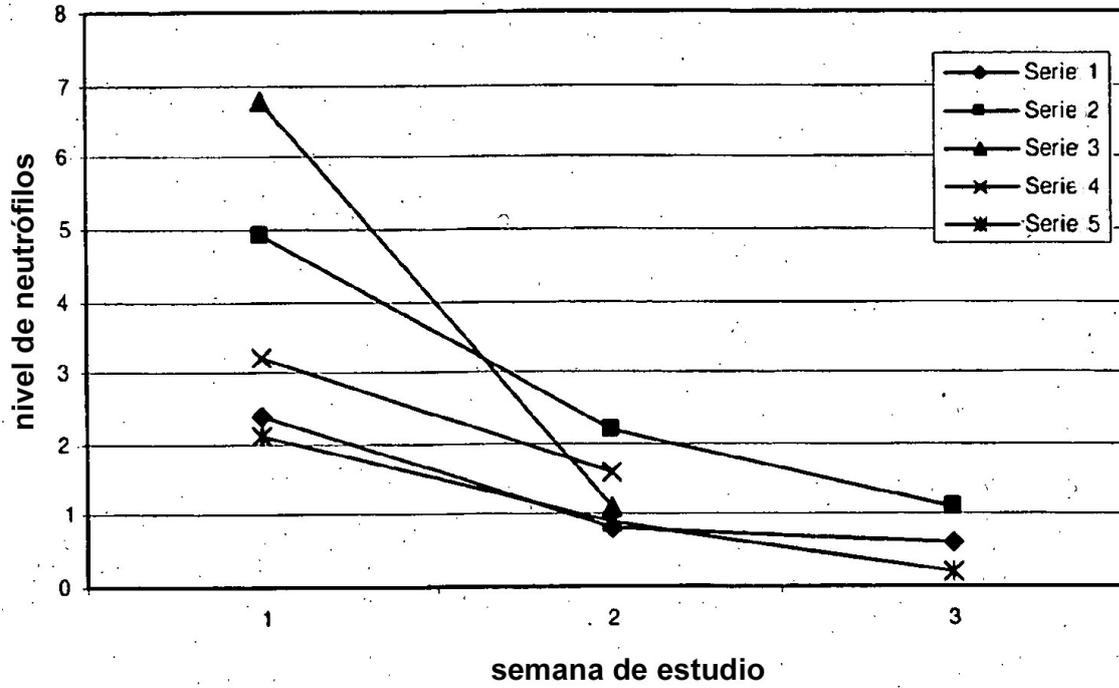


Figura 2. Recuento de neutrófilos pre y post Mab anti-CD66 marcado con Y-90



Neutrófilos pre y post tratam. Y-90; nivel de dosis 3 (25 MBq?kg)



Neutrófilos post anti CD66 marcado con Y-90
Nivel de dosis 4 37,5 MBq/kg

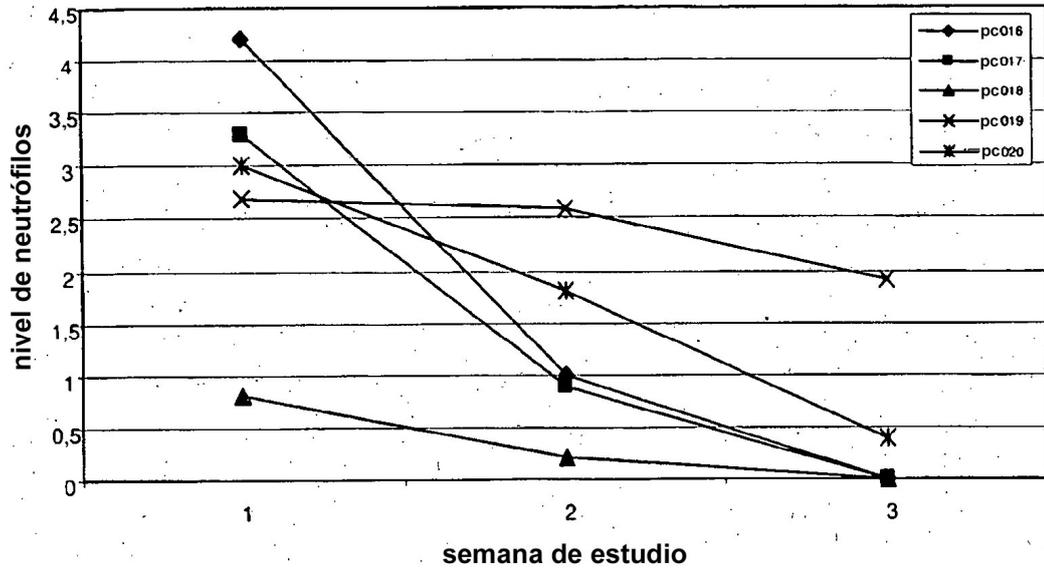
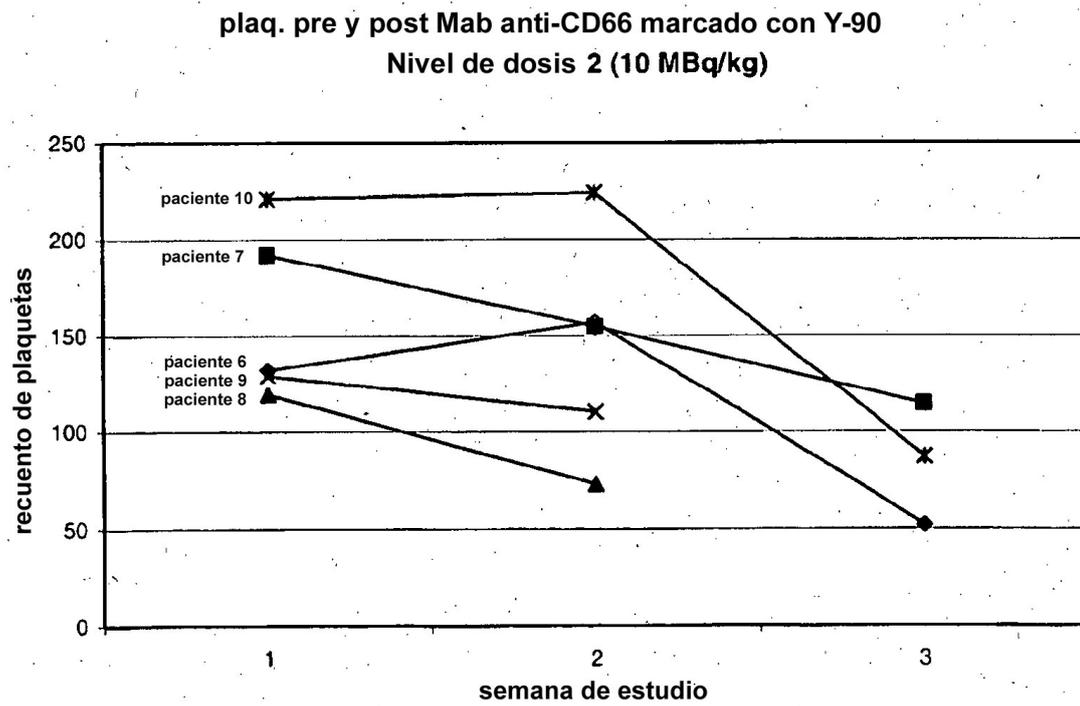
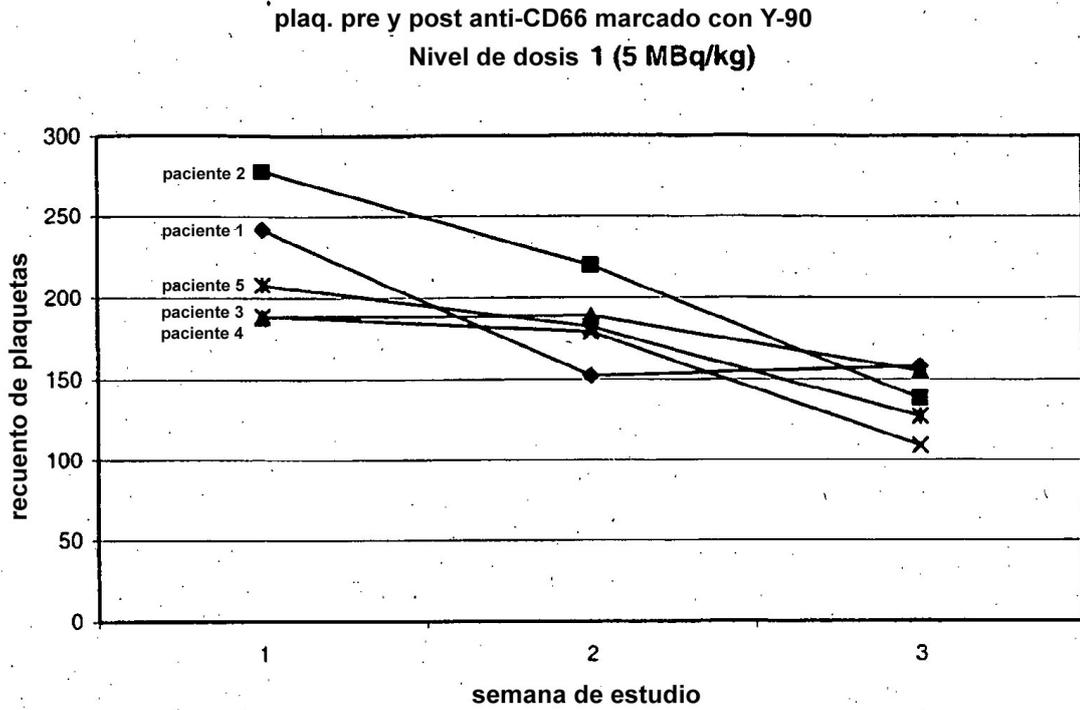
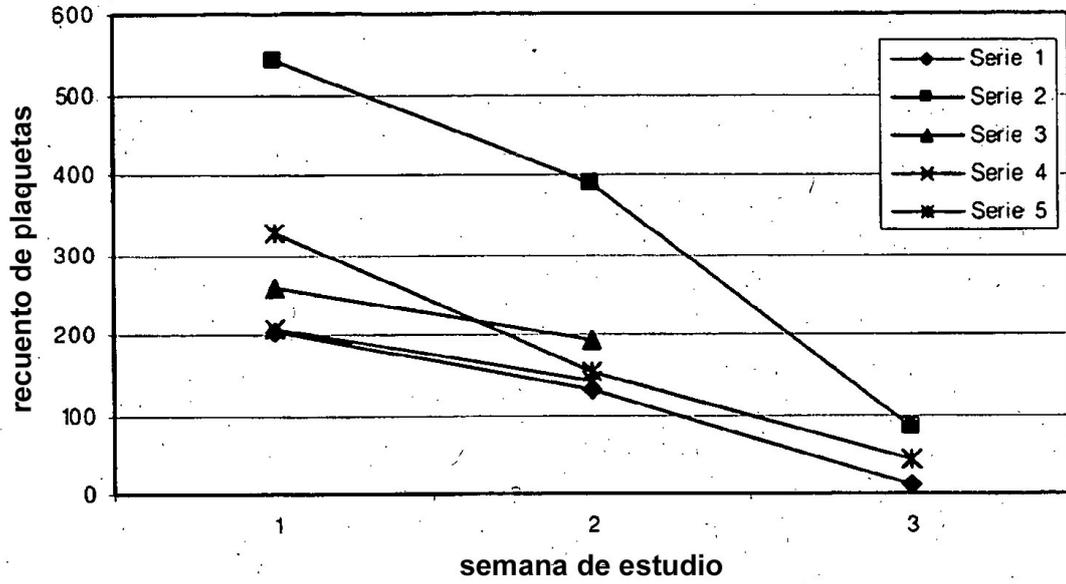


Figura 3. Recuento de plaquetas pre y post Mab anti-CD66 marcado con Y-90



Plaquetas pre y post anti CD66 marcado con Y-90
Nivel de dosis 3 (25MBq/kg)



Recuento de plaquetas pre y post anti-CD66 marcado con Y-90
Nivel de dosis 4, 37,5 MBq/kg pc

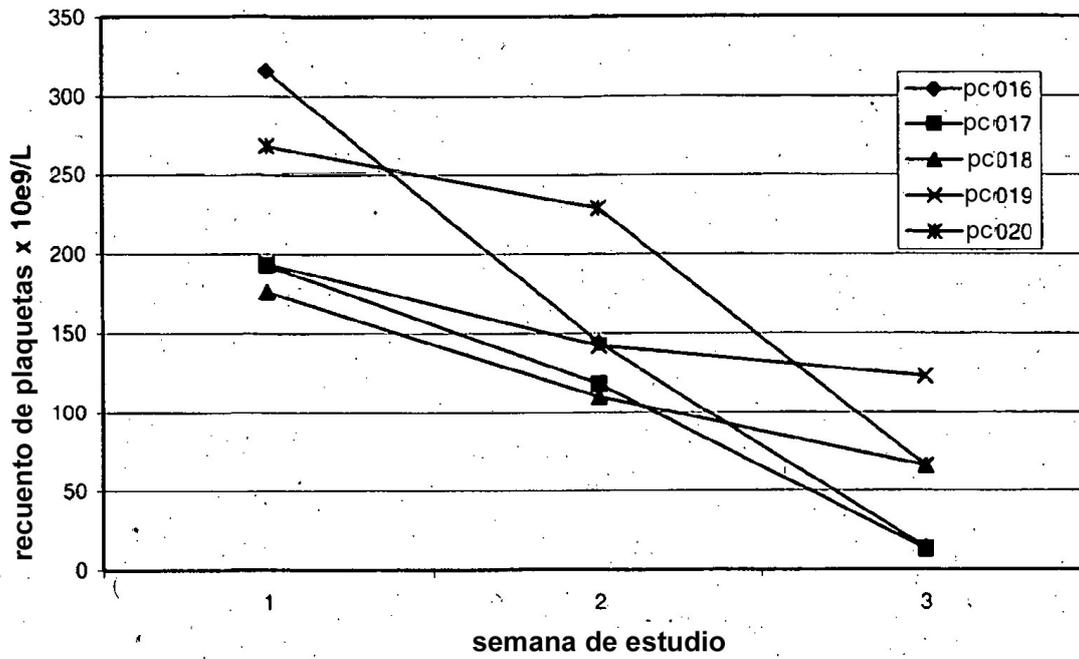


Figura 4a Farmacocinética de MAb anti-CD66 marcado con ^{111}In
Curvas tiempo-actividad de sangre para los pacientes 1-12.

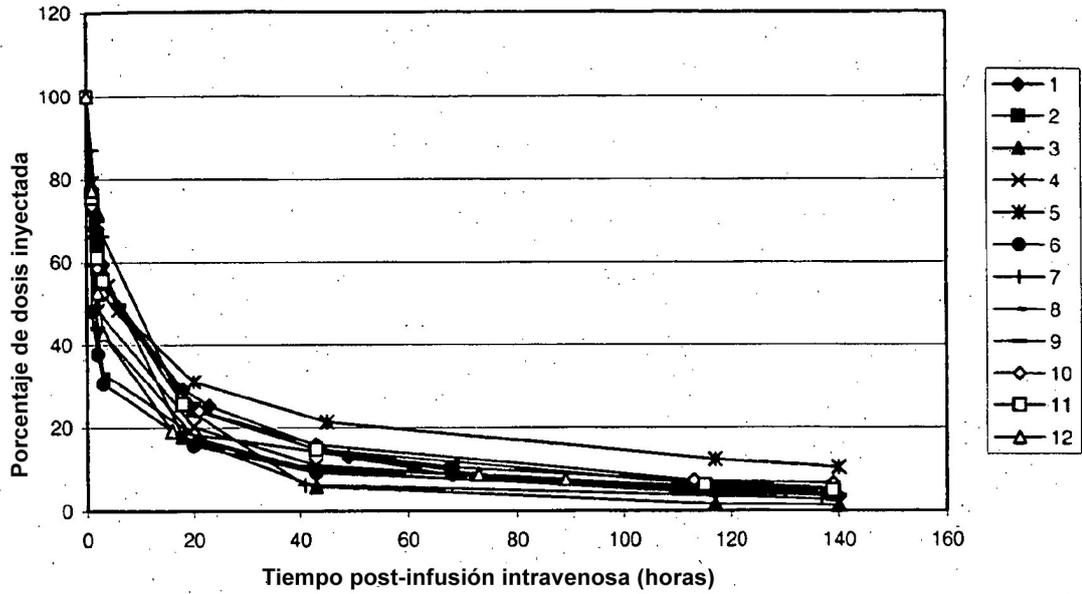
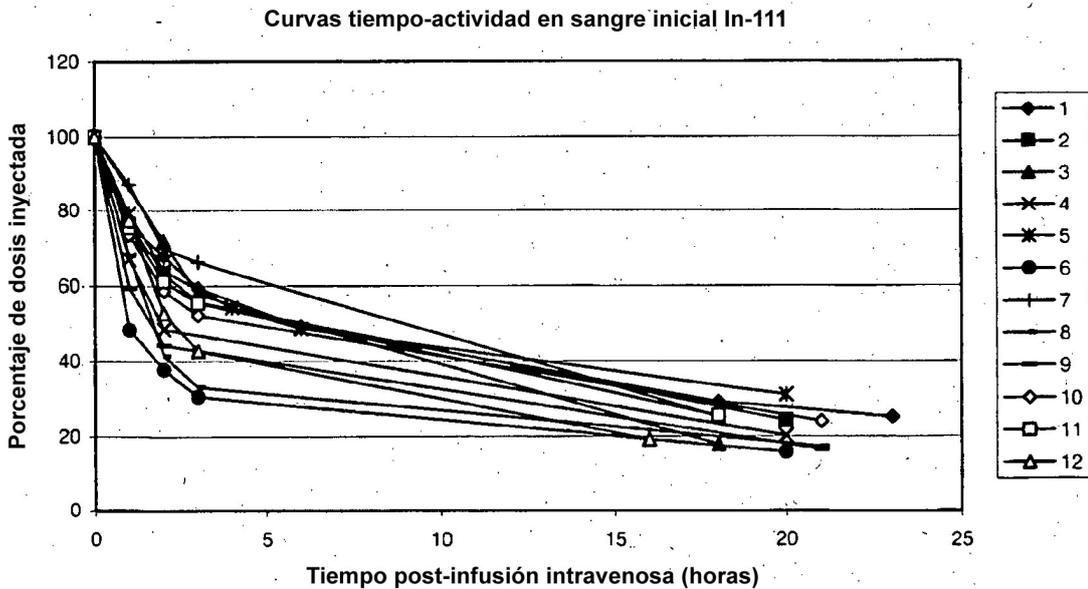


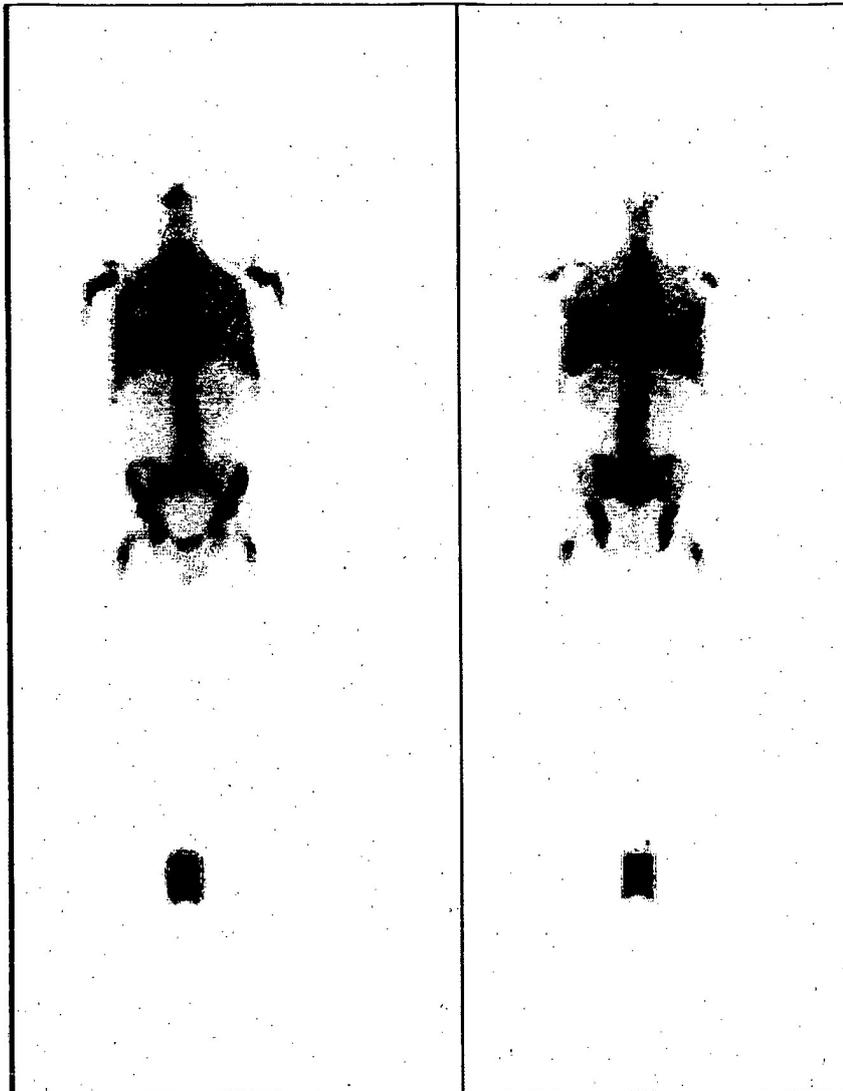
Figura 4b



Curvas tiempo-actividad para actividad de ^{111}In en sangre en los pacientes 1-12 muestran una curva bifásica similar. La extrapolación de la parte inicial de cada curva permite la derivación de $T_{1/2\alpha}$, de la segunda parte de la curva, $T_{1/2\beta}$.

Figura 5

Imágenes cuerpo total



Anterior

Posterior

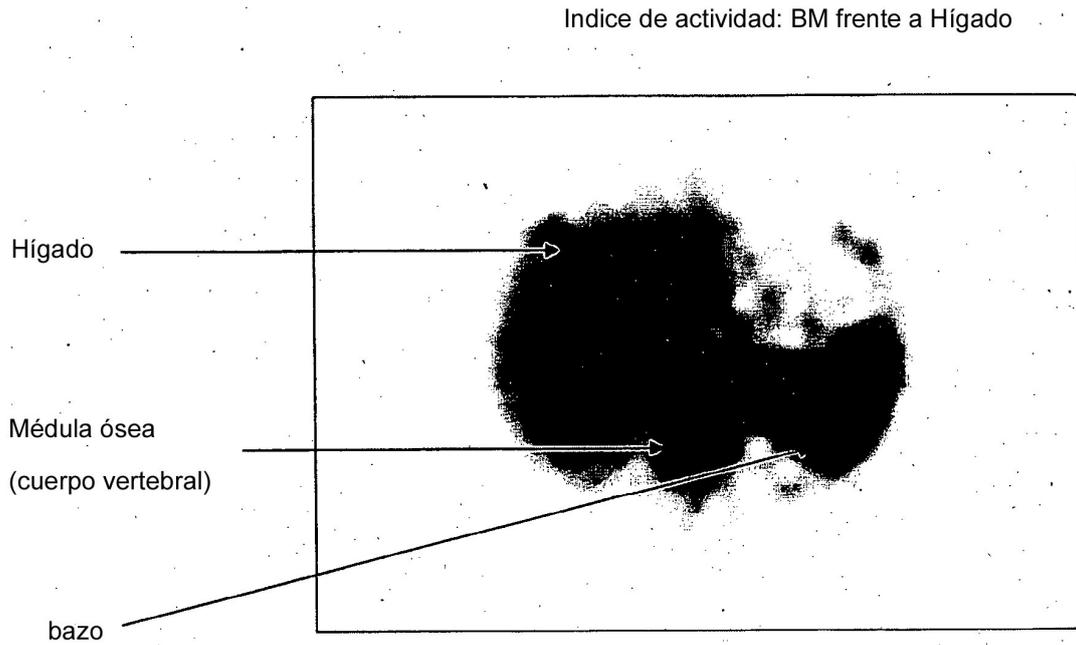
Imágenes de gamma-cámara de cuerpo total, anterior y posterior, 24 horas post-infusión intravenosa.

Obsérvese actividad de ^{111}In virtualmente completamente asociada a áreas de médula roja y bazo. Poca actividad observada en la región del hígado.

No son evidentes otras imágenes de órganos (tales como riñones).

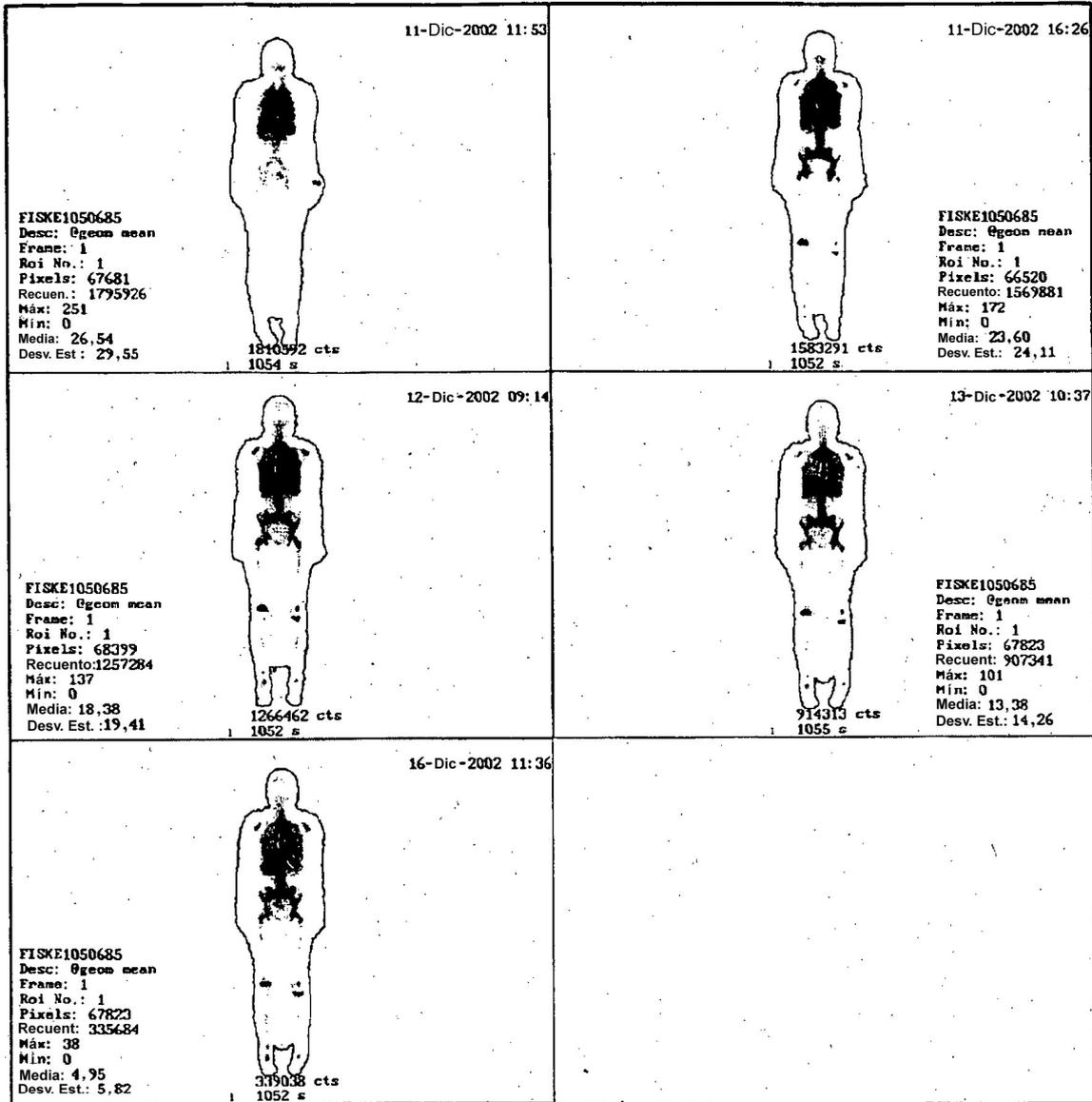
El patrón de ^{111}In es visible en el fondo de la imagen del paciente.

Figura 6 Imagen transversal creada a partir de barridos SPECT torácicos.



SIN CORRECCIONES PARA EFECTO DE VOLUMEN PARCIAL Y CELULARIDAD DE MÉDULA, LA RAZÓN DE ACTIVIDAD ACUMULADA POR 1 ML DE TEJIDO ENTRE MÉDULA ROJA E HÍGADO ES APROX. 4:1 EN ESTE PACIENTE.

Figura 7 Imágenes secuenciales de cuerpo total



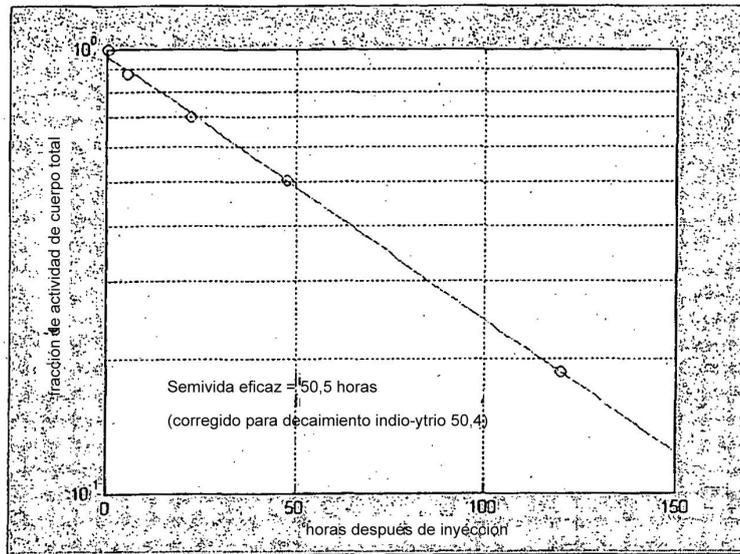
A 1 h post-infusión intravenosa se observa principalmente actividad de la mezcla de sangre. Después de 5 horas la actividad se acumula en la médula roja. Queda actividad en BM sin redistribución significativa.

Obsérvese también absorción aumentada en la rodilla derecha.

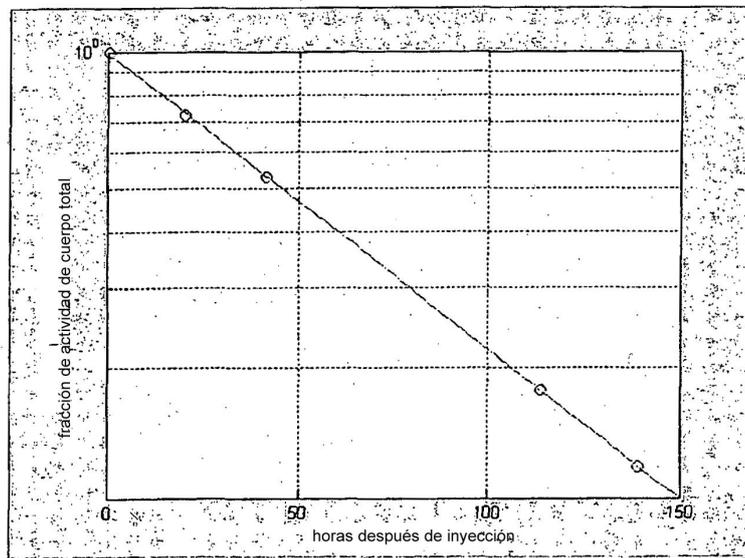
Figura 8

Actividad de ^{111}In de cuerpo total más de 7 días en 2 pacientes.

Paciente 4



Paciente 6



Los resultados de diferentes pacientes son muy consistentes indicando dosimetría predecible a partir de distribuciones de órganos iniciales.

Figura 9

Representaciones gráficas representativas de pacientes con mieloma múltiple, que demuestran la expresión de CD66 en células con coloración doble CD138/CD38.

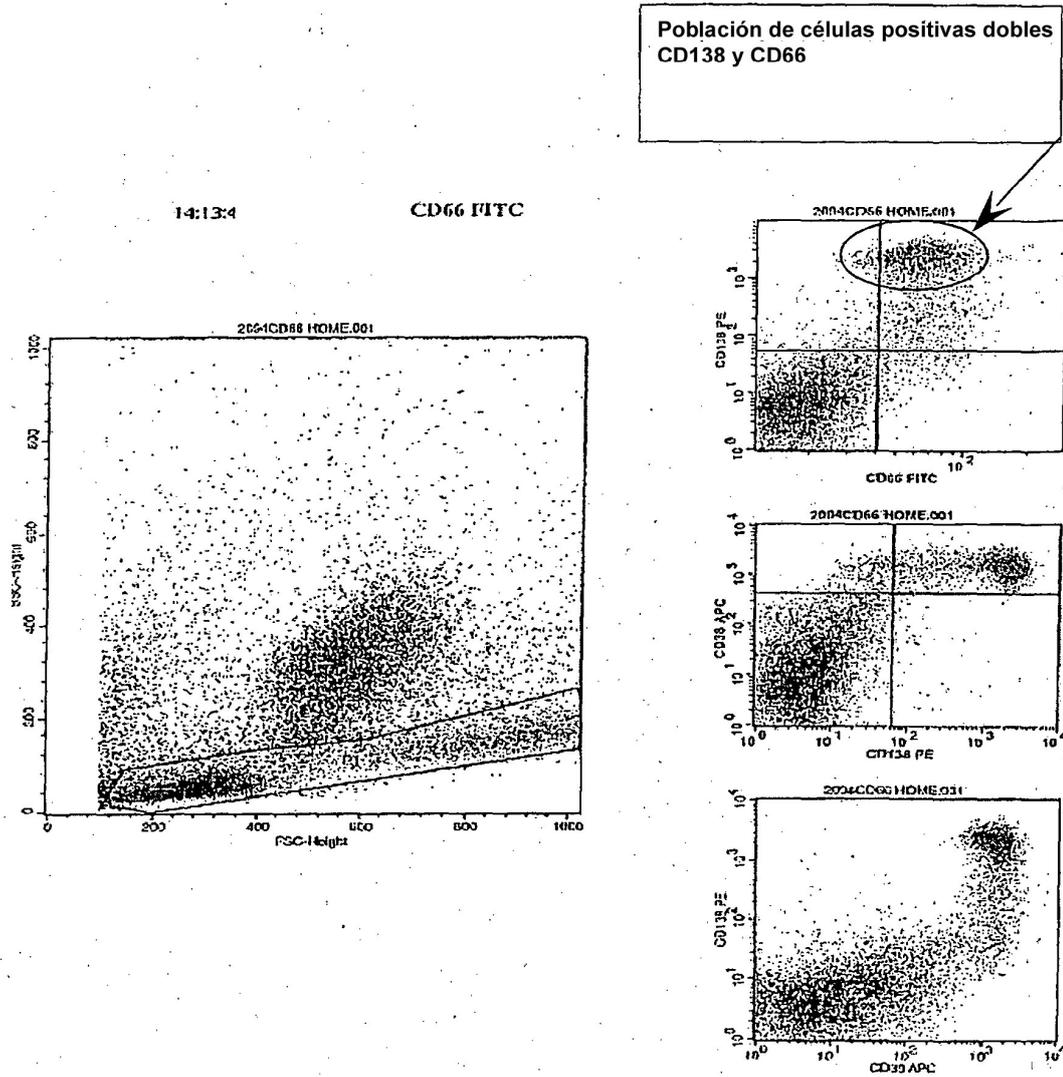


Figura 10

Gráfico de actividad de itrio-90 administrado (como MBq) frente a dosis de BM estimada (Gy)

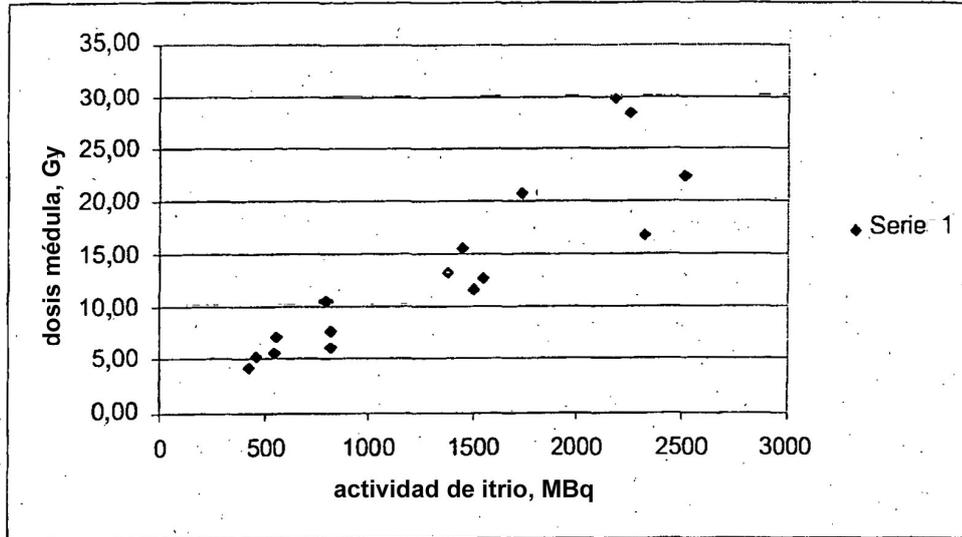


Figura 10

Hay una relación lineal entre la dosis de radiación administrada y la dosis suministrada al BM. Esto sugiere que en el futuro la dosificación del paciente individual puede ser posible a partir de una imagen gamma temprana única.

Tabla 1 Dosimetría de órganos

Paciente	dosis Y-90 infundida MRq	Estimaciones de dosis a órganos					
		Médula Ósea		Hígado		Bazo	
		mGy/MBq	Gy	mGy/MB q	Gy	mGy/MB q	Gy
1	550	10,1	5,6	3,4	1,9	4,9	2,7
2	425	10,0	4,3	2,3	1,0	14,6	6,2
3	385	7,7	3,0	5,0	1,9	1,5	0,6
4	455	11,7	5,3	2,4	1,1	6,9	3,1
5	275	7,6	2,1	3,8	1,0	4,3	1,2
6	815	9,6	7,9	1,6	1,3	8,3	6,8
7	1.000	9,9	9,9	0,8	0,8	1,7	1,7
8	818	7,5	6,2	1,9	1,6	11,1	9,1
9	560	12,9	7,2	1,9	1,1	9,9	5,5
10	800	13,1	10,5	2,3	1,8	8,5	6,7
11	1.375	9,6	13,2	2,4	3,3	6,2	8,5
12	1.550	8,2	12,8	1,9	2,9	4,1	6,4
13	1.700	12,0	20,0	2,0	3,5	8,2	14,2
14	1.500	7,7	11,5	3,8	5,7	15,0	22,5
15	1.450	10,8	15,7	2,0	2,9	7,6	11,1
16	2.250	12,6	28,4	2,8	6,3	3,5	7,9
17	2.510	8,9	22,2	3,7	9,2	5,3	13,3
18							
19	2.325	7,3	16,9	2,1	4,8	7,9	18,4
20	2.175	13,7	29,8	1,5	3,3	7,4	16,0

La dosimetría de órganos se expresa como mGy por ^{90}Y MBq infundido cuando se determina a partir de formación de imágenes gamma secuencial de áreas de interés y barridos SPECT. Resultados analizados usando MIRDOSE 3 para generar estimados de dosis de hígado y bazo y de al menos 2 sitios de médula roja (cuerpo vertebral lumbar y pelvis).

Tabla 2: Media aritmética y DE para dosis a órganos y dosis absorbida en cada nivel de dosis ^{90}Y .

<i>dosis</i> ^{90}Y <i>MBq/kg</i>	Médula ósea		Hígado		Bazo	
	mGy/MBq	Gy	mGy/MBq	Gy	mGy/MBq	Gy
5	9,63 ±2,1	4,12 ±1,6	3,38 ± 1,1	1,40 ± 0,4	6,44 ±5,0	2,76 ±2,2
10	11,6 ±1,9	9,14 ±1,6	1,69 ±5,4	1,3 ±0,4	7,75 ±4,2	5,96± 2,7
25	10,25 ±0,9	15,56 ±2,0	2,41 ±0,8	3,66 ± 1,2	8,22 ±4,1	12,55 ±6,3
37,5	10,61 ± 3,0	24,32 ± 4,3	2,5 ± 0,9	7,75 ± 2,1	6,03 ± 2,0	13,9 ± 4,5
Total	10,05 ±2,1	-	2,51 ±1,0	-	7,21 ±3,7	-

Toxicidades.

Tabla 3:

Órgano		
Hematológico[±]:		20/20 grado 3- 4
Gastro-intestinal		
	<i>Mucositis:</i>	8/20 grado 1
		6/20 grado 2
		6/20 grado 3
	<i>Diarrea:</i>	15/20 grados 1 - 2
	<i>Hígado</i>	1/20 grado 3*
Cardiovascular		1/20 grado 2**

NB No toxicidades infusionales.

[±]Toxicidades hematológicas grados 1-4 documentadas después de infusión intravenosa de anti-CD66 marcado con Y-90 como se muestra en las gráficas de recuentos en sangre periférica (figuras 1, 2 y 3) aumentando con la dosis de radiación. Toxicidad hematológica grado 3-4 predecible en todos los pacientes después de tratamiento de acondicionamiento clásico.

*1 paciente experimentó aumento de bilirrubina, secundario a otros agentes; se resolvió en la retirada de estos fármacos (noretisterona e itraconazol).

**1 paciente experimentó fibrilación auricular asintomática transitoria y ensayos de función tiroidea anormal indicativos de hipertiroidismo (T4 elevada, TSH baja). Se resolvió después de un mes.

Prendimiento.

Tabla 4: Tiempo para recuperación de glóbulos blancos totales, neutrófilos y plaquetas en sangre periférica (en días).

Paciente	Injertados S/N	G.B.> 1,0	Neuts > 0,5	Plaqs > 50
1	S	20	21	14
2	S	12	12	15
3	S	12	12	15
4	S	14	16	13
5	S	12	11	15
6	S	11	12	10
7	N	55	55	N/A
8 *	S	17	19	11
9 * §	S	26	22	22
10	S	15	15	14
11	S	9	9	12
12	S	12	12	12
13	S			
14	S			
15	S			
16	S			
17	S			
18	S (retardado)			
19	S			
20	S	.		
Media aritmética ± 1 DE	-	17,9± 12,6	18,0 ± 12,4	13,9 ±3,2

* Trasplante de hemocitoblastos alogénicos.

§ Médula ósea como fuente de hemocitoblastos.

Tabla 5: Respuestas Clínicas.

Nivel de Radiación	Paciente	Tumor maligno/ Estado en trasplante		Estado en seguimiento en Octubre de 2.005
Nivel de Radiación 1 5 MBq/kg pc	001	MM	RP	RP
	002	MM	RP	RP
	003	MM	RP	RC
	004	MM	RP	RP
	005	MM	RP	RP
Nivel de Radiación 2 10 MBq/kg pc	006	MM	RC	RC
	007	MM	RP	RP
	008	LMA	RC mini-alo	RC
	009	LMA	RC mini-alo	RC
	010	MM	RP	RC
Nivel de Radiación 3 25 MBq/kg pc	011	MM	RC	RC
	012	MM	RP	RC
	013	MM	RP mini-alo	RC
	014	MM	RC mini-alo	RC
	015	MM	RP	RC
Nivel de Radiación 4 37,5 MBq/kg pc	016	MM	RP	RC
	017	MM	RP	RC
	018	MM	RP	RP
	019	MM	RP	Demasiado pronto para evaluar
	020	MM	RP	Demasiado pronto para evaluar

MM: mieloma múltiple

RP: remisión parcial

LMA : leucemia mieloide aguda

RC : remisión completa