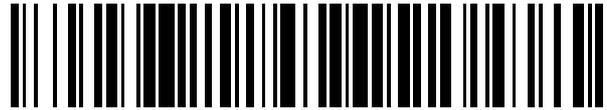


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 481 440**

51 Int. Cl.:

A61M 1/36

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2007 E 07802220 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.04.2014 EP 2077870**

54 Título: **Método para promover inmunoterapias**

30 Prioridad:

07.09.2006 DE 102006042012

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

30.07.2014

73 Titular/es:

**FRESENIUS MEDICAL CARE DEUTSCHLAND
GMBH (100.0%)
ELSE-KRÖNER-STRASSE 1
61352 BAD HOMBURG, DE**

72 Inventor/es:

**HEPPER, MARTIN;
LEINENBACH, HANS, PETER y
NOCKEN, FRANK**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 481 440 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para promover inmunoterapias

La presente invención se refiere a un método para incrementar la eficiencia de inmunoterapias y/o para incrementar la eficiencia de terapias combinadas de tratamientos medicamentosos con inmunoterapias. No terapias se emplean principalmente en el tratamiento de cáncer.

Además del tratamiento de cáncer convencional que se basa en medidas quirúrgicas, en el uso de medicamentos quimioterapéuticos y/o en irradiación, se ha establecido la inmunoterapia con anticuerpos. De la misma manera, como una terapia opcional se reconoce ya una gran cantidad de productos biotecnológicos, entre los cuales también se cuentan, entre otros, los anticuerpos terapéuticos para el tratamiento de enfermedades autoinmunes. En la actualidad, en estudios clínicos se investigan los llamados anticuerpos que neutralizan el VIH para el tratamiento del sida.

Las estructuras diana-objetivo, los llamados antígenos, difieren en gran medida para las diversas enfermedades y los modos de acción de las respectivas terapias con anticuerpos pueden ser muy diferentes dependiendo de estas estructuras diana. Los antígenos de superficie que sirven como estructuras diana para el tratamiento de enfermedades malignas son, entre otros, proteínas de membrana permanente (EGFR/HER2/VEGFR), asociadas al cáncer, sobre expresadas o también proteínas específicas de célula (CD20/CD52). La cantidad de las células positivas de antígeno en el desarrollo de linfomas es extremadamente grande, de modo que una reducción en esta población de células representa un objetivo terapéutico reconocido. Además del tratamiento de linfomas, la disminución orientada a una diana de las células positivas de antígeno también es adecuada para tratar enfermedades autoinmunes y opcionalmente para suprimir la respuesta inmune como, por ejemplo, en el caso de trasplantes. Los anticuerpos o también las proteínas de fusión, dirigidos contra mensajeros celulares como el factor de necrosis del tumor soluble, son medicamentos importantes para el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

Los primeros anticuerpos monoclonales modernos (inmunoglobulina principalmente del tipo IgG1) eran de origen de murino, es decir se produjeron mediante líneas celulares de hibridoma de ratones o de ratas. Estas moléculas de IgG1 se reconocen como ajenas, sin embargo, por parte del organismo del ser humano, de modo que son neutralizadas por el sistema inmune humano. Por esta razón, han sido preparados anticuerpos más modernos, llamados quiméricos, que se componen de porciones de murino y porciones humanas en la estructura de IgG. La llamada humanización, hasta la variante optimizada de modo biotecnológico de los anticuerpos completamente humanos, representa el siguiente paso a una mayor minimización de las porciones de murino. Anticuerpos IgG1 quiméricos, humanizados y humanos, durante la terapia pueden emplearse durante un período de tiempo más largo, por ejemplo durante meses. (Abdullah N., Cancer Immunther. 48, 517-524), (Adams GP, Weiner LM, Nature Biotechnology, 2005; 23(9): 1146 - 1157).

Además, se llevan a cabo inmunoterapias con agentes que enlazan el receptor FC γ , entre otros. Los receptores FC γ (FcR) son una familia de receptores que son específicos para las partes Fc de la inmunoglobulina (IgG). Estos receptores tienen tareas importantes en el sistema inmune normal y su resistencia a infecciones. De esta manera, IgG son una clase de moléculas que enlazan los receptores FC γ .

Hay receptores para cada clase de inmunoglobulina. Estos se definen por la clase de inmunoglobulina a la cual se enlazan. Por ejemplo, el receptor FC γ (FC γ R) enlaza IgG, el receptor Fc ϵ (Fc ϵ R) enlaza IgE, etc. entre los receptores FC γ R se hace una distinción entre tres miembros de subfamilias: FC γ RI, el cual es un receptor con gran afinidad por IgG, FC γ RII, que son receptores con afinidad más baja por IgG, cuáles sin embargo se enlazan bien a agregados de los complejos inmunes, y FC γ RIII los cuales son receptores con baja afinidad que se enlazan a complejos inmunes.

A pesar de que todos estos receptores están relacionados estructuralmente entre sí, estos tienen diversas tareas.

FC γ R se expresan por la mayoría de células hematopoyéticas y desempeñan un papel clave en el enlazamiento a IgG durante la homeostasis del sistema inmune y la defensa contra infecciones. Principalmente, FC γ RII es un receptor con afinidad baja por IgG, el cual se enlaza esencialmente sólo a complejos inmunes de IgG, y se expresa en una gran cantidad de piezas de célula, que comprenden, por ejemplo, monocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas y B-linfocitos.

Los receptores FC γ participan en diversas respuestas inmunes e inflamatorias que incluyen citotoxicidad facilitada por células y dependiente de anticuerpos (ADCC por antibody-dependent, cell-mediated cytotoxicity). La citotoxicidad facilitada por células y dependiente de anticuerpos (ADCC) es responsable del efecto de medicamentos biológicos como, por ejemplo, de anticuerpos poli- monoclonales, pero también de proteínas de fusión. La efectividad de la ADCC está directamente relacionada con la interacción descrita de la región constante del

anticuerpo, o también con las propiedades de enlace de la proteína correspondiente con los FC γ -receptores. Para la ADCC, el enlace a los receptores FC γ I y II activadores parece ser relevante; por lo contrario, el enlace de un medicamento predominantemente a receptores FC γ II suprime la respuesta inmune.

5 Un uso continuo de proteínas terapéuticas, tales como, por ejemplo, de anticuerpos o de agentes que enlazan FcR, principalmente para tratar enfermedades cancerosas y autoinmunes, enfermedades infecciosas y para suprimir reacciones de rechazo de trasplantes, se ve limitado porque estos medicamentos tienen que aplicarse en dosis altas durante una terapia continua.

10 Al usar anticuerpos, otro anticuerpo, aunque incluso también humanizado o humano, se reconocen estas proteínas ajenas por parte del sistema inmune del paciente y dependiendo de la inmunogenicidad respectiva se neutralizan mediante el desarrollo de anticuerpos (anticuerpos humanos anti-especies) propios del organismo (autólogos). Esta respuesta inmune es facilitada por, por ejemplo, anticuerpos humanos anti-murinos (HAMA por human anti-murine antibodies) en el caso de anticuerpos murinos, HARA en el caso de anticuerpos de conejos, (HAMA) en el caso de anticuerpos murino o por anticuerpos humanos anti-humanos (HAHA) en el caso de anticuerpos humanizados o humanos. Obviamente, productos de anticuerpos mono- y policlonales que se obtienen a partir de otras especies
15 tales como, por ejemplo, ratas, caballos, cabras, ovejas, reses o también cerdos, también inducen el desarrollo de anticuerpos humanos dirigidos contra las especies respectivas, lo cual con frecuencia puede conducir a reacciones inmunes fuertes y a una pérdida de eficiencia. Esta forma de anticuerpos autólogos contra anticuerpos de otros organismos se denomina de manera sinóptica anticuerpos humanos anti-especies.

20 La inmunogenicidad de los productos biotecnológicos, exógenos limita su efectividad terapéutica, por ejemplo por el desarrollo de la respuesta de HAMA y HAHA arriba descrita del sistema inmune.

La relativamente baja efectividad observada *in vivo* de las preparaciones terapéuticas de anticuerpo contrasta fuertemente con la citotoxicidad celular facilitada por anticuerpo (ADCC) frecuentemente muy alta que ha sido detectada en previas investigaciones *in vitro*. Este fenómeno también ocurre en terapias de combinación de terapias medicamentosas convencionales, por ejemplo quimioterapias, con inmunoterapias. Si en lo sucesivo se habla en general de medicamentos, esto quiere decir medicamentos convencionales sin efecto inmunoterapéutico, muy particularmente se entiende de manera preponderante que son productos quimioterapéuticos y/o citostáticos. Una posible explicación de este fenómeno es la inhibición descrita de los anticuerpos terapéuticos por medio de HAMA/HAHA (Preithner, S. et al. in Molecular Immunology, 43 (2006) 1183-1193.) Además, las IgG1 de procedencia natural representan moléculas en la sangre del paciente que de manera comparable compiten con los anticuerpos terapéuticos por los receptores Fc correspondientes, ya que estas IgG1 también se enlazan a los receptores correspondientes y de esta manera los ocupan.
25

30 Se esperaba que los anticuerpos humanizados o humanos conducirían a una efectividad mejorada y a un mejor perfil de seguridad. Como ya se ha mencionado arriba, de manera sorprendente casi todos los anticuerpos humanizados o humanos también presentan una efectividad dramáticamente disminuida *in vivo*, en comparación con una actividad *in vitro*.
35

Por lo tanto, es necesario administrar al paciente dosis de anticuerpos que sean varias veces más altas, por lo cual se incrementa el riesgo de efectos secundarios no deseados.

40 En el caso de un uso dirigido de quimioterapias clásicas en combinación con inmunoterapias a base de anticuerpos, lo cual es una terapia estándar aceptada en el campo de la oncología para el tratamiento de diversas enfermedades malignas, por ejemplo en el caso de cáncer de mama (Trastuzumab), linfomas (Rituximab) o también en el caso de cáncer de intestino (Cetuximab y Panitumumab), la efectividad necesaria tampoco se logra *in vivo*, tal como ya se indicó previamente.

45 El incremento sinérgico en la actividad de la terapia de combinación ha sido descrita clínicamente y pre-clínicamente. Los más nuevos hallazgos basados en experimentos *in vitro* demuestran que la interacción con células positivas a FcT, tales como NK, DC y similares, es la base del sinergismo observado. Se ha demostrado que, por una parte, mediante el uso de medicamentos tales como, por ejemplo, Paclitaxel (Miura D. et al., Journal of Clinical Oncology, 2007, Part I. Vol 25, No. 18S (suplemento del 20 de junio), Lenalidomida y Pomalidomide (Bartlett J.B. et al., Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (suplemento del 20 de junio)), pero también inhibidores de cinasa como, por ejemplo, Sorafinib (Hipp et al, Journal of Clinical Oncology, 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 25, No. 18S (suplemento del 20 de junio)) tienen una influencia directa en la homeostasis de las células que presentan antígeno pero también en diversas poblaciones de células T, tales como, por ejemplo, células T citotóxicas (CTLs). Para Sorafinib se ha detectado una influencia negativa en las células que presentan antígeno y el desarrollo de una respuesta CTL, por lo cual los inhibidores de cinasa tales como Sunitib aparecen como adecuados para una terapia de combinación con inmunoterapéuticos,
50 también diversos inhibidores de cinasa Her2 tales como, por ejemplo, Lapatinip o también Canertinib. En los trabajos
55

citados arriba, el efecto sinérgico se atribuyó a las poblaciones celulares positivas a FcR, las cuales facilitan la ADCC.

5 Clínicamente, en el caso de terapias de combinación existentes, desafortunadamente se registra que una mayoría de los pacientes tratados desarrollan mecanismos de resistencia a la quimioterapia usada y a la correspondiente inmunoterapia a base de anticuerpos. Diversos mecanismos desempeñan un rol aquí, de manera independiente entre sí. Algunos mecanismos de resistencia, dependientes de la diana pero también independientes de la diana, han sido descritos para las inmunoterapias listadas arriba (Herceptin: Ritter C.A. et al., *Clinical Cancer Research* 2007, 13(16):4909-4919; Valabrega G. et al., *Annals of Oncology*, 2007; Nahta R, et al., *Natl Clin Pract Oncol* 2006, 3:269-280; Esteva FJ et al., *J Clin Oncol* 2002, 20:1800-1808; Nagata Y et al., *Cancer Cell* 2004, 6:117-127; Scaltriti M et al., *J Natl Cancer Inst* 2007, 99:628-638; Rituximab: Van Meerten t et al., *Clinical Cancer Research* Vol. 12, 4027-4035, Julio 1, 2006;).

15 R. A. Montgomery et al. describen (*Transplantation*, Vol. 70, 887-895, Septiembre 27, 2000) un procedimiento terapéutico para prevenir reacciones de rechazo del trasplante de órganos. Aquí se combina una plasmaféresis (PP) con gammaglobulina intravenosa (IVIG) y citogama. Una sobredosis de anticuerpos de Ig administrada en la sangre del paciente conduce a un bloqueo de receptores de Fc y de esta manera a una inmunosupresión. Sin embargo, un bloqueo de los receptores de Fc no es deseable en el contexto de la invención, sino por lo contrario, los receptores de Fc deben mantenerse específicamente libres de anticuerpos a fin de que los anticuerpos terapéuticos puedan enlazarse a estos sitios y efectuar una ADCC. Es decir que debe excluirse una combinación de PP/IVIG y opcionalmente citogama.

20 H. Borberg un método para disminuir IgG por medio de una columna de adsorción de anti-IgG (H. Borberg, *Transfusion and Apheresis Science*, 34, 2006, 51-73) en combinación con una administración de IVIG. Aquí también la consecuencia son los problemas arriba descritos de un bloqueo de los receptores de Fc-

25 La US 6,406,861 B1 nunca un método para disminuir anticuerpos de virus, principalmente anticuerpos de adenovirus, mediante adsorción extracorporeal con el objetivo de mejorar la eficiencia de una terapia de vector de virus. La US 6,406,861 B1 no se refiere entonces a una inmunoterapia.

EP 0 082 345 A1 se refieren a un dispositivo terapéutico para eliminar de la sangre un medio dañino para la salud en forma de una instalación de gavillas de fibras huecas que están dispuestas en paralelo, donde la superficie interna de las fibras huecas individuales está recubierta con una proteína enlazada de modo covalente o con otro inmunoadsorbente, la cual es adecuada para eliminar de modo específico el medio dañino para la salud.

30 P. Kiewe et al. describen en *Clin. Cancer Res.* 2006; 12 (10), 15 de mayo de 2006, el modo de acción de Ertumaxobab en la fase I clínica para el tratamiento de cáncer de mama en metástasis.

R. P. Taylor et al. describen en *Nature Clinical Practice Rheumatology*, febrero de 2007, Vol. 3, No. 2, p. 86-95 el mecanismo de acción de Rituximab en caso de enfermedades autoinmunes.

35 J. L. Browning describe en *Nature Reviews Drug Discovery*, julio de 2006, vol. 5, No. 7, Julio de 2006 (2006-07), páginas 564 a 576 nuevas posibilidades de células B para el tratamiento de enfermedades autoinmunes.

G. Tyden et al. Describen en *American Journal of Transplantation* 2005; 5; 145 a 148 el uso de inmunoadsorción específica de antígeno y Rituximab en el caso de trasplantes de riñones ABO-incompatibles sin retirar el bazo.

J. Rech et al. describen en *Rheumatology*, abril de 2006, vol. 45, No. 4, abril de 2006, páginas 490 a 491 la combinación de inmunoadsorción y terapia de anticuerpos CD20 en pacientes con enfermedades confusas.

40 J. Rech et al. describen en *Annals of the Rheumatic Diseases*, abril de 2006, Vol. 65, No. 4, páginas 552 a 553 inmunoadsorción y tratamiento con anticuerpos CD20 en un paciente en caso de lupus eritematoso sistémico resistente e insuficiencia renal.

45 Por lo tanto, el objeto de la presente invención consistió en mejorar la efectividad de agentes que enlazan Fc γ , principalmente anticuerpos, en el tratamiento de cáncer, de modo que las desventajas descritas previamente puedan evitarse.

Otro objeto consistió en disminuir la formación de resistencia que resulta en el contexto de terapias de combinación de terapias medicamentosas convencionales con inmunoterapias, principalmente incrementar la eficiencia de tales terapias de combinación.

Es objeto de la presente invención el uso de sustancias activas que enlazan Fc γ -receptor para preparar un medicamento para tratar cáncer, en cuyo caso el tratamiento comprende los pasos de:

a) preparar una muestra de sangre de un paciente;

5 b) someter la muestra de sangre a una inmunoaféresis, y administrar al paciente la muestra de sangre tratada de esta manera

c) administrar el medicamento al paciente, en cuyo caso la sustancia activa que enlaza el Fc γ -receptor es un anticuerpo monoclonal y/o recombinante, el cual está dirigido contra antígenos asociados a cáncer.

Como paso adicional d) puede efectuarse la administración de un medicamento. De esta manera se obtienen una terapia de combinación que consiste en un tratamiento medicamentoso con una inmunoterapia.

10 Un objeto de la invención también puede ser una terapia de combinación compuesta de medicamentos o sus combinaciones que, conjuntamente con inmunoglobulinas que enlazan FcR, sus fragmentos o también proteínas de fusión, presenta una efectividad facilitada por ADCC y la cual presenta sinergia clara en la acción antitumoral.

Sustancias activas que enlazan FcR o Fc γ en el contexto de esta invención son aquellas sustancias activas con una afinidad de enlace con un valor Kd menor que 1 mM.

15 Preferiblemente, la terapia de combinación debe efectuarse con inmunoglobulinas, sus fragmentos o también proteínas de fusión que enlazan CD16 o CD64 de manera dirigida.

Además se prefiere que la inmunoglobulina, sus fragmentos o proteína de fusión induzcan una respuesta inmune facilitada por células T además de la ADCC.

20 Más preferible aún es que la inmunoglobulina, sus fragmentos o proteína de fusión contengan anticuerpos biespecíficos con un brazo de enlace CD3.

25 Asimismo se prefiere una terapia de combinación con inmunoglobulinas, sus fragmentos o también proteínas fusión, en la cual se impida la ocurrencia de resistencias mediante las respuestas celulares antitumorales previamente mencionadas. Los medicamentos preferidos para el método de la invención o el uso de la invención son productos citostáticos y quimioterapéuticos, principalmente paclitaxel, lenalidomida, pomalidomida, epirubicina, 5FU y sus derivados, e inhibidores de cinasa tales como sunitinib, lapatinib, canertinib. Además, también pueden usarse combinaciones de diversos medicamentos tales como CHOP, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona (esteroide), lenalidomidas/dexamethasona, pomalidomida/dexamethasona y paclitaxel/carboplatina.

30 En los métodos o usos de la invención, pueden emplearse inmunoglobulinas con inmunoglobulina humana, quimérica, de murino e híbrida, cuyos fragmentos o también proteínas de fusión que poseen propiedades de enlace CD16/CD64. Además se prefieren inmunoglobulinas que están dirigidas contra antígenos asociados a tumores, así como contra antígenos que están asociados con linfomas o leucemia. Éstos son Her2/neu, EGFR, Epcam, VEGF, VEGFR, MUC-1, CA 125,CEA, MAGE, CD20, CD19, CD40, CD33, anhidrasa carbónica IX, A3, antígeno específico para anticuerpos A33, BrE3-antígeno, CD1, CD1a, CD4, CD5, CD8, CD14, CD15, CD16, CD21, CD22, CD23, CD25, CD30, CD37, CD38, CD40, CD40L CD45, CD 46, CD52, CD54, CD74, CD79a, CD80, CD126, CD138, CD154, B7, 35 la, li, HM1.24, HLA-DR, NCA95, NCA90, HCG y subunidades, CEA (CEACAM-5), CEACAM-6, CSAp, EGFR, EGP-I, EGP-2, Ba 733, factor de inducción de hipoxia (HIF), KC4-antígeno, KS-I-antígeno, KS1-4, Le-Y, factor de inhibición de macrófagos (MIF), MUC2, MUC3, MUC4, P1GF, ED-B fibronectina, NCA 66a-d, PAM-4-antígeno, PSA, PSMA, RS5, SIOO, TAG-72, T101, TAG TRAIL-R1, TRAIL-R2, p53, Tenascin, IL-6, IL-8, factor-1 de crecimiento de insulina (IGF-I), antígeno Tn.

40 Asimismo es objeto de la invención una terapia de combinación de inmunoterapias y método inmunológicamente activo que influyan directamente las células FcR-positivas, en cuyo caso el método disminuye la concentración de inmunoglobulina en la sangre. Particularmente se prefiere si el método que disminuye la concentración de inmunoglobulina es un método extracorpóreo. Además se prefiere si el método es un método de adsorción que enlaza las inmunoglobulinas de procedencia natural y los complejos de inmunoglobulina. El método debe tener 45 además un sinergismo entre los medicamentos usados, sus combinaciones y las inmunoterapias.

En el paso respectivo b) del método o uso arriba mencionados se sacan los anticuerpos autólogos mediante la inmunoaféresis de la muestra de sangre o los agentes enlazantes de Fc γ -R.

La eliminación de los anticuerpos humanos anti-especies y anticuerpos de IgG del paciente antes de la administración del anticuerpo terapéutico y en caso de una terapia de combinación incluso antes de la

administración del medicamento conduce de modo sorprendente a que la efectividad de la terapia de anticuerpos, así como también de la terapia de combinación pueda mejorarse en muchas veces, y la efectividad *in vivo* corresponde ahora virtualmente a la efectividad tal como se determinó *in vitro*. La dosificación de anticuerpos terapéuticos puede disminuirse al menos en cinco veces, preferiblemente 10 veces, en modalidades muy particularmente preferidas en 20 veces, en comparación con la dosificación de anticuerpos terapéuticos en caso de métodos convencionales.

La combinación de medicamentos con inmunoterapia es que además de antígeno asociado a tumor, enlazan de manera dirigida células FcR-positivas, superan de esta manera posibles desarrollos de resistencia que podrían facilitarse por los antígenos (Her2/EGFR/CD20), cascadas de transducción de señal intracelular (apoptosis o pérdida de PTEN), u otras actividades de cinasa (HER3/PI3K/Akt). Estas inmunoterapias reclutan células que presentan antígeno de manera dirigida, por lo cual las células T se activan a su vez mediante señales co-estimuladoras (CD28/CD40).

Los candidatos ideales para una terapia de combinación representan anticuerpos humanizados completos y biespecíficos similares a IgG (Asano et al., 2007, JBC) y anticuerpos biespecíficos trifuncionales, preferiblemente quimeras IgG2a/IgG2b ratón/rata. En el caso de estas quimeras IgG2a/IgG2b ratón/rata, las células T se enlazan incluso todavía, de manera dirigida, con las células FcR I y III positivas por el segundo brazo de enlace CD-3. Ambos receptores están entre los receptores facilitadores de ADCC.

Además de los anticuerpos trifuncionales, ya existen otras diferentes inmunoterapias que reclutan de manera dirigida células CD16- o también CD64 positivas (Her2/CD16; CD30/CD16; CD19/CD64; CD15/CD64; Her2/CD64 etc.) o hacen posible un refuerzo de la ADCC mediante propiedades de enlazamiento de FcR mejoradas. Incluso aquellas inmunoterapias en las que se eluden mecanismos de resistencia potenciales y puede concebirse una terapia cinagética representan candidatos adecuados para una terapia de combinación.

Los efectos sinérgicos ya descritos de una terapia de combinación que se compone de los medicamentos arriba mencionados y de la inmunoterapia pueden reforzarse aún más con el método descrito previamente de inmunoadsorción. El agotamiento dirigido de las inmunoglobulinas de origen natural mediante una inmunoadsorción extra corporal debe efectuarse aquí antes de la terapia de combinación. En tal caso, la ADCC se fortalecería aún más puesto que la concentración de la inmunoglobulina se reduce y con esto hay más FcR disponible en estado no enlazado en las superficies de la célula. La influencia cinética del proceso de inmunoadsorción puede aprovecharse en este caso para el uso con medicamentos tales como monoterapias y/o de combinación. Como ejemplo de esto pueden mencionarse sunitinib o también paclitaxel/carboplatina o lenalidomida/dexametasona.

Las combinaciones de medicamentos/inmunoterapias pueden reforzarse aún más con este método un sinergismo particularmente fuerte resulta, no obstante, de la interacción con la terapia de combinación que consiste en medicamentos con inmunoterapia FcR-dirigidas.

Una terapia de combinación con anticuerpos humanizados y biespecíficos similares a IgG y/o anticuerpos trifuncionales y una inmunoadsorción antepuesta no solamente provoca una sinergia más fuerte respecto de la ADCC y la citotoxicidad facilitada por células T, sino que también hace posible el tratamiento a largo plazo de la terapia de combinación con los anticuerpos de murino. La inmunoadsorción antepuesta también neutraliza las inmunoglobulinas potencialmente neutralizantes (HAMA, ADA), d que están dirigidas contra los anticuerpos terapéuticos.

Eliminando los anticuerpos autólogos, la inmuno-reacción a los anticuerpos terapéuticos se vuelve mucho más suave y la efectividad de los anticuerpos terapéuticos se intensifica *in vivo* así de manera sorprendente.

Moléculas que interactúan con Fcγ-receptores son, por ejemplo, inmunoglobulinas o también la proteína C- reactiva pro-inflamatoria (Das, T., FEBS Lett., 2004), las cuales ocupan los Fcγ-receptores disponibles.

Un ejemplo según la invención es la citotoxicidad celular facilitada por anticuerpos (ADCC) la cual es responsable del efecto de medicamentos biológicos tales como, por ejemplo, anticuerpos poli- y monoclonales, pero también de proteínas de fusión. La efectividad de la ADCC está directamente relacionada con la interacción de la región constante del anticuerpo pero también con las propiedades de enlazamiento de la proteína correspondiente con los Fcγ- receptores. El enlace a los FcγI- y III- receptores activadores parece ser aquí especialmente relevante para la ADCC. El enlace de un medicamento predominantemente a Fcγ receptores reprime por lo contrario la respuesta inmune. Por ejemplo, hay anticuerpos biespecíficos que están dirigidos contra una proteína diana tal como, por ejemplo, HER2 pero también al mismo tiempo contra el Fcγ-receptor I o el Fcγ-receptor III.

Otras sustancias activas preferidas que enlazan los Fcγ-receptores son normalmente anticuerpos monoclonales de origen animal y humano, anticuerpos recombinantes, anticuerpos monoclonales primatizados, humanizados y

humanos, quiméricos, dominios de anticuerpos y fragmentos de los mismos, anticuerpos bi-, tri- y multiespecíficos y constructos de fragmentos de anticuerpos.

5 Por ejemplo, el desarrollo de estrategias de inoculación, utilizando el control dirigido de células dendríticas positivas del Fc γ -receptor, por ejemplo mediante el acoplamiento de vacunas de ADN con estructuras de IgG (Zhaoyang You et al., 2001, Cancer Research) ilustra el rango de usos posibles que se abren mediante Fc-receptores y agentes que se enlazan a los mismos.

Sacando las moléculas que interactúan con los Fc γ -receptores en la sangre, hay menos competencia por los sitios de enlace para un ingrediente activo que enlaza Fc γ -R, administrado a continuación, de modo que las sustancias activas que enlazan Fc γ -R ahora pueden enlazarse de manera preferida.

10 Después del tratamiento con anticuerpos terapéuticos o con sustancias activas que enlazan Fc γ -receptores, o después de la terapia de combinación, en modalidades preferidas del método de la invención, los anticuerpos autólogos también pueden retornarse al paciente, por ejemplo a continuación de la administración de los agentes que enlazan Fc-R.

15 El método puede llevarse a cabo tanto de modo continuo, es decir extracorporalmente, como también de modo discontinuo, después de lo cual se saca sangre respectivamente del paciente, ésta se somete al método de la invención y a continuación se retorna al paciente.

El retiro temporal de anticuerpos humanos anti-especies tales como, por ejemplo, HAMA y HARA así como de anticuerpos de IgG en general es seguro para el paciente y no eleva el riesgo de infecciones.

20 El paso b) del método de la invención se lleva a cabo varias veces en desarrollos preferidos. En tal caso pueden retirarse de la sangre del paciente hasta 80%, preferiblemente 90%, aún más preferiblemente hasta 95% de los anticuerpos correspondientes o sustancias activas que enlazan Fc γ -receptor.

De acuerdo con la invención, la muestra de sangre puede ser sangre humana o plasma sanguíneo. El plasma en este caso puede obtenerse en una etapa antepuesta, por ejemplo mediante filtración de plasma o separación de células mediante centrifugado de la sangre.

25 De esta manera, por ejemplo la sangre del paciente o el plasma también puede hacerse pasar en un paso extracorporal por un adsorbente que enlaza agentes que enlazan Fc γ , principalmente anticuerpos. La sangre o el plasma pueden retornarse al paciente. Además, usando ligandos específicos para anticuerpos autólogos con regiones que enlazan el receptor de Fc γ puede prepararse una columna que tiene ligando específico acoplada a la misma, para el tratamiento de un paciente con sustancias activas que enlazan el Fc γ -receptor, en cuyo caso el
30 tratamiento comprende los pasos de:

a) preparar una muestra de sangre de un paciente;

b) someter la muestra de sangre a una inmunoaféresis;

c) administrar al paciente una sustancia activa que enlaza Fc γ -receptor.

35 Así como también, antes o después del paso c) opcionalmente administrar la muestra de sangre tratada de esta manera a un paciente.

Por el término "ligandos específicos" se entienden aquellos ligandos que retiran selectivamente anticuerpos de la sangre aunque no los otros componentes de la sangre.

40 Cómo ligando específico puede usarse, por ejemplo, la proteína A o moléculas que son equivalentes en su acción a los Fc γ -receptores, fragmentos de las mismas, péptidos artificiales, proteínas, etc. Otros ejemplos se indican a continuación.

Además, usando ligandos específicos para anticuerpos autónomos puede prepararse una columna que tiene el ligando acoplado a la misma, para el tratamiento de un paciente con anticuerpos terapéuticos, en cuyo caso el tratamiento comprende los pasos de:

a) preparar una muestra de sangre de un paciente;

45 b) someter la muestra de sangre a una inmunoaféresis;

c) administrar al paciente una sustancia activa que enlaza Fc γ -receptor.

Así como también, antes o después del paso c) administrar opcionalmente la muestra de sangre tratada de esta manera a un paciente.

5 La matriz de la columna usada para la inmunoaféresis se compone en este caso de ser sabrosa y compuestos acrílicos tal como se describe, por ejemplo, en la EP 222 146 B1.

Antes de aplicar el ligando, la matriz se activa preferiblemente con CN-Br o compuestos con efecto similar.

Como ligandos se usan preferiblemente la proteína A, proteína G, péptidos o anti-anticuerpos. Además, como ligandos también se consideran receptores, fragmentos de los mismos o moléculas naturales o sintéticas equivalentes con propiedades de enlace equivalentes.

10 Además, la remoción extracorporal de anticuerpos humanos anti-especies y de anticuerpos de IgG puede lograrse mediante un sistema de combinación, que se compone de un dispositivo para generación de plasma sanguíneo y segundo dispositivo en el cual el plasma se hace pasar sobre una columna adsorbente. Esta columna adsorbente funciona en teoría como una columna de cromatografía.

15 La columna adsorbente se compone normalmente de una carcasa plástica biocompatible y contiene 20 a 1500 ml de una matriz inerte sobre la cual están inmovilizados ligandos específicos con una afinidad por anticuerpos humanos anti-especies, por ejemplo, tales como HAMA, HARA y IgG1 humana.

Si el plasma se hace pasar sobre la columna adsorbente, los anticuerpos humanos anti-especies y los anticuerpos IgG1 de la sangre del paciente se enlazan por estos ligandos y se eliminan por lo tanto del plasma.

Sistemas y materiales de este tipo son conocidos, por ejemplo, de la EP 0 082 345.

20 Las columnas adsorbentes son regenerables y pueden usarse repetidamente.

En un sistema típico de dos columnas, solamente una columna está en uso mientras que la segunda columna se regenera automáticamente. De esta manera la velocidad para la disminución de las especies que van a agotarse puede incrementarse en hasta 60% durante una única sesión de tratamiento.

25 De modo alternativo esto, también pueden usarse columnas más grandes con más ligandos selectivos y una capacidad de adsorción como columnas individuales.

Además, usando ligandos específicos para antígenos asociados a cáncer (marcadores de cáncer) en cuyo caso el marcador de cáncer es soluble en la sangre, puede prepararse una columna que tiene acoplados los ligandos específicos a la misma, para el tratamiento de un paciente con anticuerpos específicos de tumor, en cuyo caso el tratamiento comprende los pasos de:

30 a) preparar una muestra de sangre de un paciente;

b) someter la muestra de sangre a una aféresis eliminando los antígenos asociados a cáncer;

c) administrar un anticuerpo con efecto terapéutico al paciente.

Así como también, antes o después del paso c) administrar opcionalmente la muestra de sangre tratada de esta manera a un paciente.

35 Las terapias basadas en anticuerpos que están dirigidas contra antígenos solubles, asociados al cáncer, enlazados a la membrana celular, se encuentran en la actualidad en evaluación clínica. Tales antígenos asociados a cáncer incluyen, entre otros, CH125, PSA, MUC1, MAGE-1, HER2, CEA, AFP, EpCAM. El ligando específico usado posee una alta afinidad específica de enlace hacia el antígeno asociado a cáncer. Como ligandos principalmente pueden usarse anticuerpos específicos contra antígenos asociados a cáncer.

40 La adsorción específica de los antígenos solubles asociados a cáncer conduce a impedir que los anticuerpos terapéuticos o incluso péptidos formen complejos con los antígenos solubles libres. De esta manera se incrementa la concentración de sustancia activa en la estructura objetivo, el antígeno sobre la célula, y con esto también la efectividad. Además, con esto la citotoxicidad celular facilitada por anticuerpo puede habilitarse como respuesta inmune primaria, dirigida contra el tumor positivo a antígeno y por consiguiente extremadamente eficiente. Además,

la adsorción específica, por ejemplo de PSA, conduce a un refuerzo en la efectividad de receptores de célula T que se enlazan específicamente a PSA.

La invención sigue explicándose por medio de un ejemplo no limitante con referencia a la figura 1.

Ejemplo 1:

5 Supresión de la inhibición de suero de ADCC facilitada por herceptina mediante absorción de IgG:

Estructura experimental:

1. Sembrado de células tumorales (Her-2/neu positiva SKOV-3 células de ovario) por una noche;

2. Aislamiento de PBMC (células de sangre mononucleares periféricas) de la capa leucocitaria (película de leucocitos);

10 3. Co-cultivo de PBMC y células tumorales con herceptina en presencia de IgG-agotada (Sa) y suero nativo (Sn);

4. Las concentraciones de herceptina son de 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 1 y 10 mg/ml;

5. El tiempo de incubación fue de 20 horas;

6. La medición de citotoxicidad se efectuó por medio de XTT;

15 La figura 1 muestra que la citotoxicidad de la PBMC se suprime adicionando suero humano normal (curva PBMC + Sn). Después de adicionar plasma agotado de IgG (curva PBMC + Sa) queda la citotoxicidad de la PBMC. En el rango inferior de la concentración de herceptina está se refuerza aún más.

REIVINDICACIONES

1. Uso de una sustancia activa que enlaza Fc γ -para la preparaci3n de un medicamento para el tratamiento de c3ncer, en cuyo caso el tratamiento comprende los pasos de:

a) preparar una muestra de sangre de un paciente;

5 b) someter la muestra de sangre a una inmunof3resis as3 como administrar al paciente la muestra de sangre tratada de esta manera;

c) administrar el medicamento al paciente,

en cuyo caso la sustancia activa que enlaza el Fc γ -receptor es un anticuerpo monoclonal y/o recombinante el cual est3 dirigido contra ant3genos asociados a c3ncer.

10 2. Uso seg3n la reivindicaci3n 1, caracterizado porque como paso adicional d) se efect3a la administraci3n de un medicamento.

3. Uso seg3n la reivindicaci3n 2, caracterizado porque el medicamento es un producto quimioterap3utico o uno citost3tico.

15 4. Uso seg3n la reivindicaci3n 2 o 3, caracterizado porque el medicamento se selecciona de un grupo que comprende paclitaxel, lenalidomida, pomalidomida, epirubicina, 5FU y sus derivados, e inhibidores de cinasa tales como sunitinib, lapatinib, canertinib, o combinaciones de diferentes medicamentos seleccionados del grupo que comprende CHOP, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisolona (esteroide), lenalidomidas/dexametasona, pomalidomida/dexametasona y paclitaxel/carboplatina.

20 5. Uso seg3n la reivindicaci3n 1, caracterizado porque los anticuerpos sacados de la muestra de sangre en el paso b) se administran al paciente de nuevo a continuaci3n del paso c).

6. Uso seg3n una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la muestra de sangre es sangre humana o plasma sangu3neo.

7. Sustancia activa que enlaza el Fc γ -receptor para usarse en el tratamiento de c3ncer, en cuyo caso el tratamiento comprende los pasos de:

25 a) preparar una muestra de sangre de un paciente;

b) someter la muestra de sangre a una inmunof3resis as3 como administrar al paciente la muestra de sangre tratada de esta manera;

c) administrar al paciente el medicamento,

30 y en cuyo caso la sustancia activa que enlaza el Fc γ -receptor es un anticuerpo monoclonal y/o recombinante el cual est3 dirigido contra ant3genos asociados a c3ncer.

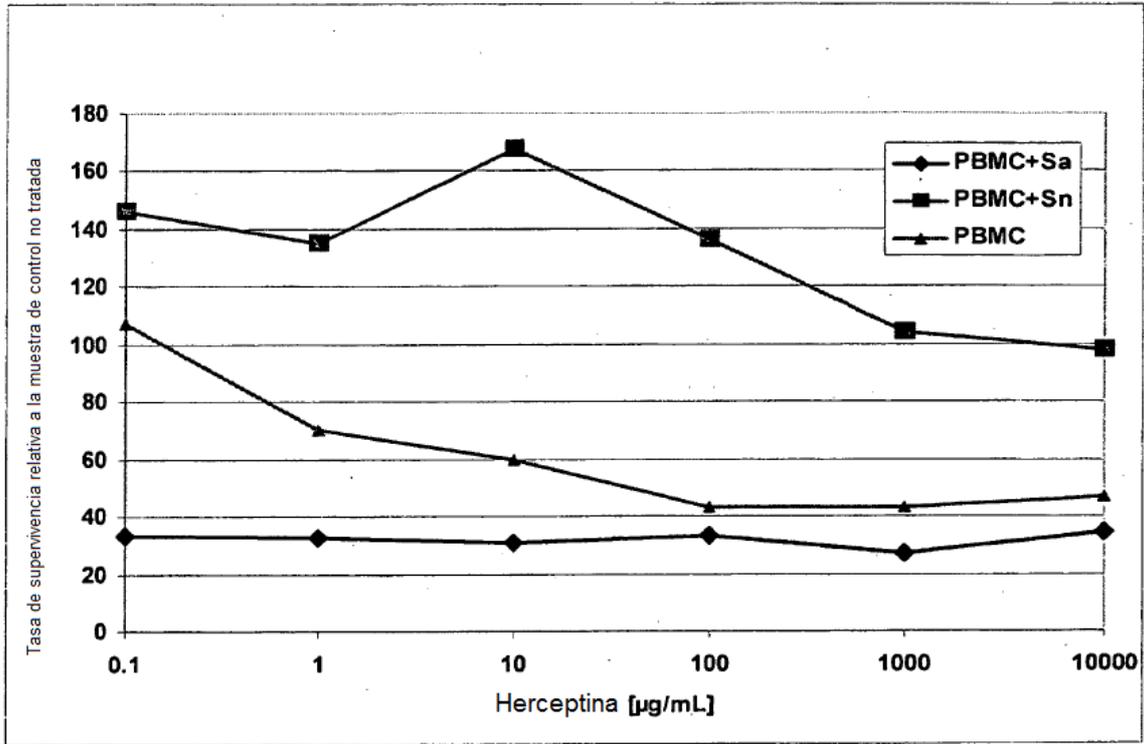


FIG. 1