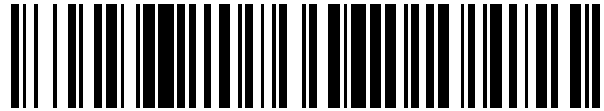


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 565 439**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/574** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.01.2010 E 10700589 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2386062**

54 Título: **Factores**

30 Prioridad:

**09.01.2009 US 143640 P**

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

**04.04.2016**

73 Titular/es:

**OXFORD BIOMEDICA (UK) LTD (100.0%)  
Medawar Center Robert Robinson Avenue The  
Oxford Science Park  
Oxford OX4 4GA, GB**

72 Inventor/es:

**HARROP, RICHARD**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 565 439 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

## Factores

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un método de terapia para el cáncer que emplea un factor o un conjunto de factores para predecir si un paciente se beneficiará del tratamiento con un agente inmunoterapéutico.

10 En particular, el método predice el beneficio clínico para un paciente potencial de un vector MVA que expresa un gen 5T4 humano, tal como Trovax®. Más en particular, el método se refiere a aquellos pacientes con cáncer renal, colorrectal o de próstata.

## 15 Antecedentes de la invención

Las células tumorales son, de manera destacable, malos inmunógenos a pesar del hecho de que se han identificado muchos antígenos que están sobreexpresados o que son únicos para las células tumorales (antígenos asociados a tumores). La razón de esta aparente falta de inmunogenicidad puede ser que los antígenos del cáncer generalmente no se presentan al sistema inmune en un microambiente que favorezca la activación de las células inmunitarias que podría dar lugar a la eliminación de las células tumorales. Aunque ningún mecanismo individual puede explicar la baja inmunogenicidad tumoral en todos los modelos experimentales estudiados, la base molecular puede separarse conceptualmente en distintos agrupamientos: i) ausencia de expresión de moléculas coestimuladoras esenciales para la inducción inmunitaria eficaz, ii) producción de sustancias inmunoinhibidoras e iii) variabilidad en la expresión de antígenos por tumores.

25 Se ha hecho un gran progreso en la identificación de antígenos asociados a tumores (AAT) que son potencialmente útiles en el desarrollo de vacunas anticáncer recombinantes. Los AAT pueden dividirse en tres categorías principales: i) antígenos virales no propios, por ejemplo, E6/E7 del virus del papiloma humano (VPH), ii) autoantígenos alterados, por ejemplo, MUC-1 e iii) autoantígenos no mutados, por ejemplo, 5T4 y antígeno carcinoembrionario (CEA).

35 El virus vaccinia (VV), un miembro de la familia poxvirus, se ha desarrollado como un vector de expresión recombinante para la administración genética de antígenos. Se ha demostrado que los animales inyectados con un VV recombinante (rVV) producen respuestas tanto de anticuerpo como de CTL a las proteínas exógenas. A diferencia de las células tumorales, la infección por VV parece crear un ambiente óptimo para la inducción de una respuesta inmune eficaz. Los VV recombinantes que expresan homólogos murinos de AAT, que, en modelos murinos, se clasifican como autoantígenos, también han demostrado inducir respuestas inmunes específicas de AAT en modelos murinos, lo que ilustra que dichas construcciones son potencialmente capaces de superar la tolerancia inmunitaria a los autoantígenos. Los modelos *in vivo* demuestran que las respuestas inmunes generadas son capaces de prevenir el establecimiento tumoral y en algunos casos son capaces de tratar activamente los tumores establecidos. Estos datos también indican que es posible convertir una respuesta antiviral en una respuesta anticáncer presentando un AAT en el contexto de antígenos virales.

45 Se han construido y se han evaluado vectores de VV recombinantes que expresan el autoantígeno CEA respecto de su toxicidad y en menor medida respecto de su eficacia en el cáncer colorrectal en etapa tardía. Dichos vectores rVV se toleraron bien y se comunicaron respuestas de anticuerpos y mediadas por células al autoantígeno CEA. La ausencia de datos de respuesta tumoral en estos ensayos puede deberse a la población de pacientes que tenía tumores muy avanzados y que ya había fracasado con la quimioterapia anterior. Hasta la fecha, se ha vacunado a más de 700 personas con rVV y otros poxvirus que expresan AAT en un espectro de ensayos clínicos de inmunoterapia para el cáncer. No se ha comunicado toxicidad ya sea por el virus o como resultado de la respuesta inmune inducida al AAT más allá de reacciones locales en el sitio de inyección y pirexia transitoria.

55 Los métodos adecuados y los marcadores clínicos adecuados, sin embargo, que pueden orientar dichos métodos inmunoterapéuticos, podrían ser extremadamente beneficiosos.

Se ha comunicado que el carcinoma de células renales (CCR) es el décimo cáncer más común en los Estados Unidos y los estudios sugieren un continuo aumento en la incidencia de CCR. Aunque la mayoría de los pacientes con CCR temprano pueden curarse quirúrgicamente, aproximadamente el 33 % de los pacientes presentan enfermedad metastásica para la que el tratamiento normalmente no es curativo. Además, aproximadamente el 50 % de los pacientes que se someten a cirugía potencialmente curativa para la enfermedad menos avanzada tienen probabilidades de desarrollar una recurrencia con metástasis distantes. La supervivencia a los cinco años para los pacientes con enfermedad metastásica *de novo* o recurrente varía entre el 0 % y el 20 %.

65 Se ha comunicado que los factores clínicos asociados con pacientes con CCR metastásico cuando se tratan con citocinas (interferón e interleucina), quimioterapia o una diversidad de terapias históricas incluyen factores relacionados con el tumor, paciente y la enfermedad, tales como estado de rendimiento (ER), tiempo desde el

diagnóstico hasta la terapia, número de sitios metastásicos, metástasis viscerales, hemoglobina, calcio, lactato deshidrogenasa, marcadores de la inflamación y otros.

5 Choueriri *et al*, *Cancer* (2007), 110(3): 543-550 revisaron los registros de pacientes con carcinoma de células renales (CCR) metastásico que se trataron con agentes anti VEGF (bevacizumab, sunitinib, sorafenib y axitinib) con el objetivo de identificar pacientes que tienen más probabilidades de beneficiarse de estos agentes. El artículo comunica que aunque se asociaron muchos factores individualmente con la supervivencia libre de progresión (SLP) en los análisis de una sola variable, solo se identificaron 5 factores como predictores independientes de un mal resultado en el análisis multivariable posterior. Se identificaron los siguientes factores con la característica menos favorable listada en primer lugar: estado de rendimiento inicial de Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG ER)  $\geq 1$  frente a 0, tiempo desde el diagnóstico hasta el tratamiento actual  $< 2$  años frente a  $\geq 2$  años, calcio en suero corregido inicialmente anormal  $< 8,5$  mg/dl o  $> 10$  mg/dl frente a  $8,5-10$  mg/dl, alto recuento de plaquetas  $> 300$  K/ $\mu$ l frente a  $\leq 300$  K/ $\mu$ l, y mayor recuento absoluto de neutrófilos (RAN)  $> 4,5$  K/ $\mu$ l frente a  $\leq 4,5$  K/ $\mu$ l.

15 Sin embargo, Choueriri *et al* solamente enseñan que estos factores se asociaron con la SLP para pacientes con CCR metastásico que recibieron cuatro terapias dirigidas a VEGF específicas. A un experto en la materia no le enseña qué factores pueden o no ser importantes para otras terapias y otros cánceres. No queda claro si los mismos factores comunicados anteriormente son relevantes para pacientes que se tratan con, por ejemplo, inmunoterapias.

20 El carcinoma colorrectal (CRC) es uno de los cánceres más comunes en las sociedades Occidentales, siendo el segundo después del cáncer de pulmón como causa de muerte debido a una neoplasia maligna. Es el segundo cáncer más común en Inglaterra y Gales. Aproximadamente, 24.000 hombres y mujeres desarrollan la enfermedad cada año, y más de la mitad de estos mueren.

25 Fusek *et al*, *World J Gastroenterol* (2004), 10(13): 1890-1892 intentaron examinar el metabolismo del calcio en pacientes con CRC y pacientes de control. Se incluyeron setenta pacientes de CRC recién diagnosticados. El grupo de control sano se emparejó en cuanto a edad y sexo. Llegaron a la conclusión de que sus resultados fortalecen más aún la posibilidad de que el calcio en suero puede ser un factor patogénico y pronóstico en el desarrollo de CRC. Afirman que sus datos dirigen la atención a la posibilidad de que al aumentar la ingesta de calcio, puede verse influenciado el proceso patogénico multinivel que da lugar a la tumorigénesis. A continuación afirman que para demostrar esto, son necesarios estudios adicionales.

30 Fusek *et al*, sin embargo, no indican si el calcio en suero puede ser un factor patogénico y pronóstico para cualquiera de las terapias farmacológicas usadas para tratar el CRC y otros cánceres.

35 Padrik *et al*. (Padrik, P. *et al*. (2003) *Med. Oncol.* 20: 325-34) se refiere a factores pronósticos de inmunoterapia en el carcinoma de células renales metastásico.

40 Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de métodos adecuados y de marcadores clínicos adecuados que puedan orientar los métodos inmunoterapéuticos.

#### Sumario

45 La invención proporciona materiales y métodos que abordan una o más necesidades en los campos de la terapia para el cáncer, inmunoterapia, o campos relacionados.

50 Algunos aspectos de la invención se refieren a materiales y a métodos para controlar o determinar la eficacia de una inmunoterapia. El control mejorado permite una mejora de la terapia para sujetos individuales; y una determinación más rápida de qué sujetos se benefician de la terapia. A los sujetos que obtienen un menor beneficio se les puede administrar regímenes terapéuticos modificados o diferentes.

#### Afirmaciones de la invención

55 En un aspecto, la presente invención proporciona un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia, en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de 5T4, que implica (a) medir un nivel de plaquetas y hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de plaquetas en la muestra con un nivel de referencia de plaquetas y comparar el nivel de hemoglobina en la muestra con un nivel de referencia de hemoglobina, en el que un nivel menor de plaquetas y un nivel mayor de hemoglobina en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.

60 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia, en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de 5T4, que implica (a) medir un nivel de plaquetas y hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tienen niveles menores de plaquetas que un nivel de referencia de plaquetas y niveles mayores de hemoglobina que un nivel de referencia de hemoglobina tiene una probabilidad

aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tienen mayores niveles de plaquetas y menores niveles de hemoglobina.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que responderán a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de plaquetas y los niveles diferenciales de hemoglobina y en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de 5T4.

#### 10 Recuentos de plaquetas iniciales

Se ha identificado que la inmunoterapia funciona mejor en pacientes con cáncer con un menor recuento de plaquetas inicial.

15 Por lo tanto, en el presente documento se describe un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de plaquetas en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de plaquetas en la muestra con un nivel de referencia de plaquetas, en el que un menor nivel de plaquetas en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.

20 Por "nivel menor" se incluyen pacientes que tienen un nivel o recuento de plaquetas inicial por debajo de la mediana para un paciente en necesidad de inmunoterapia o por debajo o hacia el extremo inferior de los niveles normales.

25 Un método adicional para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia implica (a) medir un nivel de plaquetas en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tienen niveles bajos de plaquetas tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tienen altos niveles de plaquetas.

30 También se describe un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer. El método implica a) determinar un nivel de plaquetas en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de plaquetas en una muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de plaquetas antes del tratamiento con el nivel de plaquetas después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.

35 Por "que recibe inmunoterapia" también se incluye pacientes que están siendo evaluados para inmunoterapia.

40 En otras palabras, se describe un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que pueden responder a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de plaquetas, en el que un nivel de plaquetas por debajo de un nivel de referencia se asocia con un beneficio.

45 Por "nivel menor" se incluye un paciente o población de pacientes que tienen un nivel de plaquetas bien por debajo de un nivel de referencia para un paciente o población de pacientes al que se le ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia; o por debajo de un nivel de referencia para un individuo o población normal. Por "nivel de referencia" se incluye un nivel que representa un nivel por debajo del cual la administración de inmunoterapia conferirá un beneficio clínico al paciente o población de pacientes, tal como una supervivencia general mejorada, una supervivencia libre de progresión aumentada, un riesgo disminuido de recurrencia o diseminación del tumor.

50 En una realización, el nivel menor incluiría un paciente o población de pacientes que tienen un nivel de plaquetas por debajo de la mediana para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia, también incluirá un paciente o población de pacientes que tienen un nivel de plaquetas que está por debajo de la mediana para un individuo o población de pacientes normal.

55 En una realización, el nivel o recuento de plaquetas asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\leq 400 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 350 \times 10^9 /l$ , o aproximadamente  $\leq 300 \times 10^9 /l$ . Más en particular, el nivel de plaquetas asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\leq 287 \times 10^9 /l$ . En una realización preferida, el recuento inicial de plaquetas es aproximadamente  $\leq 281 \times 10^9 /l$ ,  $\leq 281,5 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 275,5 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 273 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 250 \times 10^9 /l$ ,  $\leq 232 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 225 \times 10^9 /l$ , o aproximadamente  $\leq 215 \times 10^9 /l$ . Se prefieren especialmente niveles de plaquetas  $\leq 287 \times 10^9 /l$ ,  $\leq 281 \times 10^9 /l$ , o incluso más preferidos  $\leq 232 \times 10^9 /l$ . Estos niveles pueden asociarse particularmente con pacientes con CCR o CRC.

65 En una realización, el nivel de plaquetas asociado con un resultado más favorable en CCR es de aproximadamente  $\leq 400 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 350 \times 10^9 /l$ , o aproximadamente  $\leq 300 \times 10^9 /l$ . Más en particular, el nivel de plaquetas asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\leq 287 \times 10^8 /l$ . En una realización

preferida, el recuento de plaquetas inicial en CCR es aproximadamente  $\leq 281 \times 10^9 /l$ ,  $\leq 281,5 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 275,5 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 273 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 250 \times 10^9 /l$ ,  $\leq 232 \times 10^9 /l$ , aproximadamente  $\leq 225 \times 10^9 /l$ , o aproximadamente  $\leq 215 \times 10^9 /l$ . Se prefieren especialmente niveles de plaquetas asociados con CCR  $\leq 287 \times 10^9 /l$ ,  $\leq 281 \times 10^9 /l$ , o incluso más preferidos  $\leq 232 \times 10^9 /l$ .

5 Los niveles de plaquetas anteriormente citados se comunican en relación con una población de pacientes diagnosticada de CCR en la que los niveles de plaquetas variaron de 114 a  $1074 \times 10^9 /l$  y la mediana del nivel de plaquetas es de  $281 \times 10^9 /l$ ; una población de pacientes de CCR y una población de pacientes de CRC en la que la mediana de los niveles de plaquetas fueron de  $273 \times 10^9 /l$ , pero los niveles o sus equivalentes en relación a otras poblaciones de pacientes pueden aplicarse generalmente al campo de la inmunoterapia.

10 Un recuento de plaquetas normal en una persona sana (mayor de 1 año) es de entre 130.000 y 400.000 por  $\text{mm}^3$  (microlitro) de sangre ( $130\text{-}400 \times 10^9 /l$ ).

15 Niveles de hemoglobina

Se ha identificado que la inmunoterapia funciona mejor en pacientes con cáncer con un mayor nivel inicial de hemoglobina.

20 Por lo tanto, en el presente documento se describe un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir el nivel de hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de hemoglobina en la muestra con un nivel de referencia de hemoglobina, en el que un mayor nivel de hemoglobina en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.

25 Por "mayor nivel" se incluyen pacientes que tienen un nivel de hemoglobina inicial por encima de la mediana para un paciente en necesidad de inmunoterapia o por encima o hacia el extremo superior de los niveles normales.

30 Un método adicional para determinar un pronóstico de supervivencia para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia implica (a) medir un nivel de hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que un primer grupo de pacientes que tienen altos niveles de hemoglobina tiene una probabilidad aumentada de supervivencia que el segundo grupo de pacientes que tiene bajos niveles de hemoglobina.

35 También se describe un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer. El método implica (a) determinar un nivel de hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de hemoglobina en una muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de hemoglobina antes del tratamiento con el nivel de hemoglobina después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.

40 Por "que recibe inmunoterapia" también se incluye pacientes que están siendo evaluados para inmunoterapia, es decir, pacientes que podrían beneficiarse potencialmente del tratamiento para el cáncer.

45 En otras palabras, se describe un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que pueden responder a la inmunoterapia que comprende comparar los niveles diferenciales de hemoglobina, en el que un nivel de hemoglobina por encima de un nivel de referencia se asocia con un beneficio.

50 Por "mayor nivel" se incluye un paciente o población de pacientes que tienen un nivel de hemoglobina por encima de un nivel de referencia para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia; o por encima de un nivel de referencia para un individuo o población normal. Por "nivel de referencia" se incluye un nivel que representa un nivel por encima del cual la administración de inmunoterapia conferirá un beneficio clínico para el paciente o población de pacientes, tal como supervivencia general mejorada, supervivencia libre de progresión aumentada, un riesgo disminuido de recurrencia o diseminación del tumor.

55 En una realización, el mayor nivel incluirá un paciente o población de pacientes que tiene un nivel de hemoglobina por encima de la mediana para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia; o por encima de la mediana para un individuo o población de pacientes normal.

60 En una realización, el nivel de hemoglobina asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\geq 100 \text{ g/l}$ , o más preferentemente aproximadamente  $\geq 125 \text{ g/l}$ , o aún más preferentemente aproximadamente  $\geq 130 \mu\text{mol/l}$  o aproximadamente  $\geq 132 \text{ g/l}$ . En una realización aún más preferida, el nivel de hemoglobina asociado con un resultado más favorable es mayor de aproximadamente  $\geq 140 \text{ g/l}$  o aproximadamente  $\geq 145 \text{ g/l}$ . En una realización especialmente preferida, el nivel de hemoglobina asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\geq 153 \text{ g/l}$ . Estos niveles pueden asociarse particularmente con pacientes con CCR o CRC.

En una realización, el nivel de hemoglobina asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\geq 100$  g/l, o más preferentemente aproximadamente  $\geq 125$  g/l, o aún más preferentemente aproximadamente  $\geq 130$   $\mu\text{mol/l}$  o aproximadamente  $\geq 132$  g/l. En una realización aún más preferida, el nivel de hemoglobina asociado con un resultado más favorable en CCR es mayor de aproximadamente  $\geq 140$  g/l o aproximadamente  $\geq 145$  g/l. En una realización especialmente preferida, el nivel de hemoglobina asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\geq 153$  g/l. Estos niveles de hemoglobina se comunican en conexión con una población de pacientes de CCR en la que los niveles de hemoglobina varían entre 65-190 g/l y una mediana del nivel de hemoglobina de  $\geq 132$  g/l, pero los niveles o sus equivalentes pueden aplicarse generalmente en relación a otras poblaciones de pacientes al campo de la inmunoterapia.

Se ha comunicado que el nivel de hemoglobina en una población normal está en el intervalo de 118-168 g/l. Sin embargo, se ha comunicado que los niveles de hemoglobina varían de acuerdo con el sexo y la edad. Por lo tanto, el intervalo de referencia de 118-168 g/l se ha comunicado como normal para varones de más de 65 años. Para los varones de 18-64 años el nivel de hemoglobina en una población normal se ha comunicado como en el intervalo de 138-172 g/l. Para mujeres de 18-64 años el nivel de hemoglobina en una población normal se ha comunicado como en el intervalo de 120-156 g/l. Para mujeres de más de 65 años el nivel de hemoglobina en una población normal se ha comunicado como en el intervalo de 111-155 g/l.

#### Niveles de monocitos

Se ha identificado que la inmunoterapia funciona mejor en pacientes con cáncer con un nivel inicial bajo de monocitos.

Por lo tanto, en el presente documento se describe un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de monocitos en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de monocitos en la muestra con un nivel de referencia de monocitos, en el que un nivel menor de monocitos en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.

Por "nivel menor" se incluyen pacientes que tienen un nivel inicial de monocitos por debajo de la mediana para un paciente que necesita inmunoterapia o por debajo o hacia el límite inferior de los niveles normales.

Un método adicional para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe el tratamiento de inmunoterapia implica (a) medir un nivel de monocitos en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que un primer grupo de pacientes que tienen bajos niveles de monocitos tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene altos niveles de monocitos.

También se describe un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer. El método implica (a) determinar un nivel de monocitos en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de monocitos en una muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de monocitos antes del tratamiento con el nivel de monocitos después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.

Por "que recibe inmunoterapia" también se incluye pacientes que están siendo evaluados para inmunoterapia, es decir, pacientes que podrían beneficiarse potencialmente del tratamiento para el cáncer.

En otras palabras, se describe un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que pueden responder a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de monocitos, en el que un nivel de monocitos por debajo de un nivel de referencia se asocia con un beneficio.

Por "nivel menor" se incluye un paciente o población de pacientes que tienen un nivel de monocitos bien por debajo de un nivel de referencia para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia, o por debajo de un nivel de referencia para un individuo o población normal. Por "nivel de referencia" se incluye un nivel que representa un nivel por debajo del cual la administración de inmunoterapia conferirá un beneficio clínico al paciente o población de pacientes, tal como una supervivencia general mejorada, una supervivencia libre de progresión aumentada, un riesgo disminuido de recurrencia o diseminación del tumor.

En una realización, el nivel menor incluirá un paciente o población de pacientes que tienen un nivel de monocitos por debajo de la mediana para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia; también incluirá un paciente o población de pacientes que tengan un nivel de monocitos que esté por debajo de la mediana para un individuo o población de pacientes normal.

En una realización, el nivel de monocitos asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\leq 1,10 \times 10^9/l$  o aproximadamente  $\leq 1,0 \times 10^9/l$ , o más preferentemente aproximadamente  $\leq 0,80 \times 10^9/l$ , aproximadamente  $\leq$

0,60 x 10<sup>9</sup>/l, o aproximadamente ≤ 0,40 x 10<sup>9</sup>/l. Aún más particularmente, el nivel de monocitos asociado con un resultado más favorable es aproximadamente ≤ 0,20 x 10<sup>9</sup>/l. Estos niveles pueden asociarse particularmente con pacientes con CCR.

- 5 Los intervalos de referencia de monocitos en una población normal de pacientes se han comunicado como 0,20-1,10 GI/l (0,20-1,10 x 10<sup>9</sup>/l) (más de 1 año) en términos absolutos [% de monocitos de 0,0-12,0 (más de 18 años)].

Niveles de glóbulos blancos sanguíneos (GBS)

- 10 Se ha identificado que la inmunoterapia funciona mejor en pacientes con cáncer con un menor nivel o recuento de glóbulos blancos sanguíneos (GBS).

15 Por lo tanto, en el presente documento se describe un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de GBS en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de GBS en la muestra con un nivel de referencia de GBS, en el que un menor nivel de GBS en la muestra se correlaciona con un mayor beneficio para el paciente.

20 Por "menor nivel" se incluyen pacientes que tienen un nivel inicial de GBS por debajo de la mediana para un paciente que necesita inmunoterapia o por debajo o hacia el extremo inferior de los niveles normales.

25 Un método adicional para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe el tratamiento de inmunoterapia implica (a) medir un nivel de GBS en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tienen niveles bajos de GBS tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene altos niveles de GBS.

30 También se describe un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer. El método implica (a) determinar un nivel de GBS en la muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de GBS en la muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de GBS antes del tratamiento con el nivel de GBS después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.

35 Por "que recibe inmunoterapia" también se incluye pacientes que están siendo evaluados para inmunoterapia, es decir, pacientes que podrían beneficiarse potencialmente del tratamiento para el cáncer.

40 En otras palabras, se describe un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer a tratamientos con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que pueden responder a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de GBS en el que un nivel de GBS por debajo de un nivel de referencia se asocia con un beneficio.

45 Por "menor nivel" se incluye un paciente o población de pacientes que tiene un nivel GBS bien por debajo de un nivel de referencia para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia, o por debajo de un nivel de referencia para un individuo o población normal. Por "nivel de referencia" se incluye un nivel que representa un nivel por debajo del cual la administración de inmunoterapia conferirá un beneficio clínico al paciente o población de pacientes, tal como supervivencia general, una supervivencia libre de progresión aumentada, un riesgo disminuido de recurrencia o diseminación del tumor.

50 En una realización, el nivel menor incluirá un paciente o población de pacientes que tengan un nivel de GBS por debajo de la mediana para un paciente o población de pacientes a los que se les haya diagnosticado cáncer y por lo tanto necesiten tratamiento, tal como inmunoterapia; también incluirá un paciente o población de pacientes que tengan un nivel de GBS que esté por debajo de la mediana para un individuo o población de pacientes normal.

55 En una realización, el nivel de GBS asociado con un resultado más favorable es aproximadamente ≤ 10,8 GI/l, aproximadamente ≤ 10,4 GI/l, aproximadamente ≤ 100 GI/l, aproximadamente ≤ 9,6 GI/l, aproximadamente ≤ 9,2 GI/l, aproximadamente ≤ 8,8 GI/l, aproximadamente ≤ 8,4 GI/l, aproximadamente ≤ 8,0 GI/l, aproximadamente ≤ 7,6 GI/l, aproximadamente ≤ 7,2 GI/l, aproximadamente ≤ 6,8 GI/l, aproximadamente ≤ 6,4 GI/l, aproximadamente ≤ 5,0 GI/l, aproximadamente ≤ 4,6 GI/l, aproximadamente ≤ 4,2 GI/l, aproximadamente ≤ 3,8 GI/l, aproximadamente ≤ 3,4 GI/l, aproximadamente ≤ 3,0 GI/l, aproximadamente ≤ 2,6 GI/l, aproximadamente ≤ 2,2 GI/l, aproximadamente ≤ 1,8 GI/l, aproximadamente ≤ 1,4 GI/l, aproximadamente ≤ 1,0 GI/l, o aproximadamente ≤ 0,8 GI/l. En otras realizaciones, el nivel de GBS es aproximadamente ≤ 3,0 GI/l o aproximadamente ≤ 1,1 GI/l. En otra realización, el nivel de GBS es aproximadamente ≤ 5,0 GI/l, aproximadamente ≤ 5,9 GI/l, aproximadamente ≤ 7,2 GI/l, aproximadamente ≤ 8,6 GI/l o aproximadamente ≤ 10,4 GI/l. Estos niveles pueden asociarse particularmente con pacientes con CCR.

65 Estos niveles de GBS se comunican en conexión con una población de pacientes de CCR, pero los niveles o sus equivalentes en relación a otras poblaciones de pacientes pueden aplicarse generalmente al campo de la inmunoterapia.

Los intervalos de referencia para GBS en una población de pacientes normales se han comunicado como de 0,8-10,8 GI/l (más de 18 años).

Combinaciones

5 Se ha descubierto que si un paciente tiene dos o más de los factores o biomarcadores favorables anteriormente mencionados, el efecto beneficioso de la inmunoterapia para el paciente es mayor que si el paciente solo tiene uno de los factores favorables.

10 Por lo tanto, en el presente documento se describe un método adicional para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe inmunoterapia que implica (a) medir los niveles de uno o más, y preferentemente dos o más de los siguientes biomarcadores: monocitos, plaquetas, hemoglobina y GBS, y (b) comparar el nivel de los uno o más biomarcadores seleccionados en la muestra con un nivel de referencia de los uno o más biomarcadores seleccionados, en el que un nivel bajo de monocitos, GBS y/o plaquetas y un alto nivel de cualquiera de hemoglobina (según sea adecuado), en dicha muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para dicho paciente.

20 En una realización particularmente preferida se ha descubierto que los niveles de plaquetas, monocitos y hemoglobina tiene un impacto en la eficacia del tratamiento frente al placebo. En particular, los niveles hematológicos anormales, y en particular los niveles de plaquetas, monocitos y hemoglobina, se asocian con una eficacia reducida del tratamiento. En otras palabras, hay una ventaja de supervivencia para el tratamiento en pacientes con niveles hematológicos normales.

25 Se ha descubierto que además de los factores o biomarcadores anteriormente mencionados, la inmunoterapia puede funcionar de una manera diferente en pacientes con cáncer con características iniciales adicionales. Los factores que pueden ser beneficiosos para el tratamiento del cáncer pueden resumirse del modo siguiente:

Altos Niveles	Bajos Niveles
Cloruro	Basófilos
Creatinina	Calcio Corregido
Eosinófilos	Calcio en Suero
Hematocrito	Monocitos
Hemoglobina	Neutrófilos
Sodio	Plaquetas
	Glóbulos blancos sanguíneos (GBS)

30 Por lo tanto, otro método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe inmunoterapia implica (a) medir los niveles de plaquetas, hemoglobina, monocitos y/o GBS y uno o más biomarcadores seleccionados del grupo que consiste en: calcio corregido, creatinina, cloruro, eosinófilos, hematocrito, sodio, basófilos, calcio en suero, y neutrófilos y (b) comparar el nivel de plaquetas, hemoglobina, monocitos y/o GBS y del uno o más biomarcadores seleccionados en la muestra con un nivel de referencia de plaquetas, hemoglobina, monocitos y/o GBS y del uno o más biomarcadores seleccionados, en el que un bajo nivel de plaquetas, monocitos y/o GBS, un nivel alto de hemoglobina, y un alto nivel de cualquiera de creatinina, cloruro, eosinófilos, hematocrito, sodio y/o un bajo nivel de cualquiera de calcio corregido, basófilos, calcio en suero, y neutrófilos en dicha muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para dicho paciente.

35 En particular, en relación con el calcio corregido, se ha descubierto que los siguientes niveles son indicativos de un efecto:

40 Niveles de calcio corregido

Se ha identificado que la inmunoterapia funciona mejor en pacientes con cáncer con un menor nivel inicial de calcio corregido.

45 Por lo tanto, en el presente documento se describe un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de calcio corregido en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de calcio corregido en la muestra con un nivel de referencia de calcio corregido, en el que un menor nivel de calcio corregido en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.

50 Por "menor nivel" se incluye pacientes que tienen un nivel de calcio corregido inicial por debajo de la mediana para un paciente que necesita inmunoterapia.

55 Un método adicional para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia implica (a) medir un nivel de calcio corregido en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se



clasifica que el primer grupo de pacientes que tienen bajos niveles de calcio corregido tienen una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tienen altos niveles de calcio corregido.

5 También se describe un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer. El método implica (a) determinar un nivel de calcio corregido en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de calcio corregido en una muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de calcio corregido antes del tratamiento con el nivel de calcio corregido después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.

10 Por "que recibe inmunoterapia" también se incluye pacientes que están siendo evaluados para inmunoterapia, es decir, pacientes que podrían beneficiarse potencialmente del tratamiento para el cáncer.

15 En otras palabras, se describe un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que pueden responder a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de calcio corregido, en el que un nivel de calcio corregido por debajo de un nivel de referencia se asocia con un beneficio.

20 Por "menor nivel" se incluye un paciente o población de pacientes que tienen un nivel calcio corregido bien por debajo de un nivel de referencia para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia, o por debajo de un nivel de referencia para un individuo o población normal. Por "nivel de referencia" se incluye un nivel que representa un nivel por debajo del cual la administración de inmunoterapia conferirá un beneficio clínico al paciente o población de pacientes, tal como una supervivencia general mejorada, una supervivencia libre de progresión aumentada, un riesgo disminuido de recurrencia o diseminación del tumor.

25 En una realización, el nivel menor incluirá un paciente o población de pacientes que tengan un nivel de calcio corregido por debajo de la mediana para un paciente o población de pacientes a los que se les haya diagnosticado cáncer y por lo tanto necesiten tratamiento, tal como inmunoterapia; también incluirá un paciente o población de pacientes que tengan un nivel de calcio corregido que esté por debajo de la mediana para un individuo o población de pacientes normal.

30 En una realización, el nivel de calcio corregido asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\leq 12,0$  mg/dl o aproximadamente  $\leq 11,0$  mg/dl, o más preferentemente aproximadamente  $\leq 10,0$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 9,6$  mg/dl, o aproximadamente  $\leq 9,4$  mg/dl. Aún más particularmente, el nivel de calcio corregido asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\leq 9,3$  mg/dl. En otras realizaciones el nivel de calcio corregido es aproximadamente  $\leq 9,2$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 9,1$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 9,0$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 8,8$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 8,7$  mg/dl o aproximadamente  $\leq 8,6$  mg/dl. Se prefieren especialmente niveles de calcio corregido de aproximadamente  $\leq 9,3$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 9,2$  mg/dl o aproximadamente  $\leq 9,1$  mg/dl. Estos niveles pueden asociarse particularmente con pacientes con CCR o CRC.

35 Más en particular, en una realización, el nivel de calcio corregido asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\leq 12,0$  mg/dl o aproximadamente  $\leq 11,0$  mg/dl, o más preferentemente aproximadamente  $\leq 10,0$  mg/dl aproximadamente  $\leq 9,6$  mg/dl, o aproximadamente  $\leq 9,4$  mg/dl. Aún más particularmente, el nivel de calcio corregido asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\leq 9,3$  mg/dl. En otras realizaciones, el nivel de calcio corregido asociado con CCR es aproximadamente  $\leq 9,2$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 9,1$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 9,0$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 8,8$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 8,7$  mg/dl o aproximadamente  $\leq 8,6$  mg/dl. Se prefieren especialmente niveles de calcio corregidos asociados con CCR de aproximadamente  $\leq 9,3$  mg/dl, aproximadamente  $\leq 9,2$  mg/dl o aproximadamente  $\leq 9,1$  mg/dl. Estos niveles de calcio corregidos se comunican en conexión con una población de pacientes de CCR en la que los niveles de calcio corregidos variaron de 6,8 a 15,4 mg/dl y una mediana de nivel de calcio corregido de 9,3 mg/dl, pero los niveles o sus equivalentes en relación a otras poblaciones de pacientes pueden aplicarse generalmente al campo de la inmunoterapia.

40 En poblaciones normales, el nivel de calcio en suero está estrechamente regulado con un *calcio total* normal de 2,2-2,6 mmol/l (9-10,5 mg/dl) y un *calcio ionizado* normal de 1,1-1,4 mmol/l (4,5-5,6 mg/dl).

45 La cantidad de calcio total varía con el nivel de albúmina sérica, una proteína a la que se une el calcio. El efecto biológico del calcio se determina por la cantidad de *calcio ionizado*, en vez de por el calcio total. El calcio ionizado no varía con el nivel de albúmina, y por lo tanto es útil para medir el nivel de calcio ionizado cuando la albúmina sérica no se encuentra en intervalos normales, o cuando se sospecha un trastorno en el calcio a pesar de un nivel de calcio total normal.

50 Se puede derivar un nivel de calcio corregido cuando la albúmina es anormal. Esto es para corregir respecto del cambio en el calcio total debido al cambio en el calcio unido a albúmina, y proporciona una estimación de cuál sería el nivel de calcio en caso de que la albúmina estuviese dentro de los intervalos normales.

55

Calcio corregido (mg/dl) = Ca total medido (mg/dl) + 0,8 (4,0 - albúmina sérica [g/dl]), donde 4,0 representa el nivel medio de albúmina.

5 En los casos donde hay hipoalbuminemia (albúmina por debajo de lo normal), el nivel de calcio corregido es mayor que el calcio total.

Los intervalos de referencia para el calcio corregido en una población de pacientes normales se han comunicado como de 2,12-2,56 mmol/l (más de 3 años) [8,48-10,24 mg/dl].

10 Con respecto a la creatinina se ha descubierto que los siguientes niveles están asociado con un efecto:

Niveles de creatinina

15 Se ha identificado que la inmunoterapia funciona mejor en pacientes con cáncer con un mayor nivel inicial de creatinina.

20 Por lo tanto, en el presente documento se describe un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de creatinina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de creatinina en la muestra con un nivel de referencia de creatinina, en el que un mayor nivel de creatinina en la muestra se correlaciona con un mayor beneficio para el paciente.

25 Por "mayor nivel" se incluye pacientes que tienen un nivel de creatinina inicial por encima de la mediana para un paciente que necesita inmunoterapia.

30 Un método adicional para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente que recibe el tratamiento de inmunoterapia implica (a) medir un nivel de creatinina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que un primer grupo de pacientes que tienen altos niveles de creatinina tienen una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tienen bajos niveles de creatinina.

35 También se describe un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer. El método implica (a) determinar un nivel de creatinina en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de creatinina en la muestra del paciente después del tratamiento, en el que la comparación del nivel de creatinina antes del tratamiento con el nivel de creatinina después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.

40 Por "que recibe inmunoterapia" también se incluye pacientes que están siendo evaluados para inmunoterapia, es decir, pacientes que podrían beneficiarse potencialmente del tratamiento para el cáncer.

45 En otras palabras, se describe un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que puedan responder a la inmunoterapia que comprende comparar los niveles diferenciales de creatinina, en el que un nivel de creatinina por encima de un nivel de referencia se asocia con beneficio.

50 Por "mayor nivel" se incluye un paciente o población de pacientes que tienen un nivel de creatinina bien por encima de un nivel de referencia para un paciente o población de pacientes a los que se les ha diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia; o por encima de un nivel de referencia para un individuo o población normal. Por "nivel de referencia" se incluye un nivel que representa un nivel por encima del cual la administración de inmunoterapia conferirá un beneficio clínico al paciente o población de pacientes, tal como, supervivencia general, supervivencia libre de progresión aumentada, riesgo disminuido de recurrencia o difusión del tumor.

55 En una realización, el nivel mayor incluirá un paciente o población de pacientes que tengan un nivel de creatinina por encima de la mediana para un paciente o población de pacientes a los que se les haya diagnosticado cáncer y por lo tanto necesitan tratamiento, tal como inmunoterapia; o también incluirá un paciente o población de pacientes que tengan un nivel de creatinina que esté por encima de la mediana para un individuo o población de pacientes normal.

60 En una realización, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\geq 100 \mu\text{mol/l}$ , o aproximadamente  $\geq 110 \mu\text{mol}$ , más preferentemente aproximadamente  $\geq 120 \mu\text{mol/l}$ . En una realización aún más preferida, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable es mayor que aproximadamente el nivel normal en una población. El intervalo normal de nivel de creatinina en una población normal se ha comunicado como de aproximadamente 44 a 124  $\mu\text{mol/l}$ . Por lo tanto, en una realización aún más preferida, el nivel de creatinina es aproximadamente  $\geq 124 \mu\text{mol/l}$ . En una realización particularmente preferida, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\geq 130 \mu\text{mol}$ , o aproximadamente  $\geq 135 \mu\text{mol/l}$ . En una realización especialmente preferida, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable es aproximadamente  $\geq 145 \mu\text{mol/l}$ . Estos niveles pueden asociarse particularmente con pacientes con CCR o CRC.

En una realización, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\geq 100 \mu\text{mol/l}$ , o aproximadamente  $\geq 110 \mu\text{mol}$ , más preferentemente aproximadamente  $\geq 120 \mu\text{mol/l}$ . En una realización aún más preferida, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable en CCR es mayor que aproximadamente el nivel normal en una población. El intervalo normal de nivel de creatinina en una población normal se ha comunicado como de aproximadamente 44 a 124  $\mu\text{mol}$ . Por lo tanto, en una realización aún más preferida, el nivel de creatinina en CCR es aproximadamente de 124  $\mu\text{mol/l}$ . En una realización particularmente preferida, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\geq 130 \mu\text{mol}$ , o aproximadamente  $\geq 135 \mu\text{mol/l}$ . En una realización especialmente preferida, el nivel de creatinina asociado con un resultado más favorable en CCR es aproximadamente  $\geq 145 \mu\text{mol/l}$ . Estos niveles de creatinina se comunican en conexión con una población de pacientes de CCR en la que los niveles de creatinina variaron de 58-268  $\mu\text{mol/l}$  y una mediana de nivel de creatinina de 111  $\mu\text{mol/l}$ , pero los niveles o sus equivalentes en otras poblaciones de pacientes pueden aplicarse generalmente al campo de la inmunoterapia.

#### Niveles de eosinófilos

En relación a los eosinófilos, el nivel de eosinófilos (ABS) en una población de pacientes normales se ha comunicado como de 0,05-0,55 GI/l (más de 0 años), y también como 0,0-7,0 % (más de 18 años), y las referencias a una cantidad alta o más alta pueden determinarse consecuentemente y en referencia a las definiciones anteriormente mencionadas.

#### Niveles de hematocrito

En relación al hematocrito, los niveles de hematocrito en una población de pacientes normales se han comunicado (proporcionados como un porcentaje de 1,0) como 0,410-0,500 (varones de 18 a 64 años), 0,360-0,490 (varones de más de 65 años), 0,350-0,460 (mujeres de 18-64 años), y de 0,330-0,460 (más de 65 años), y las referencias a una cantidad alta o más alta pueden determinarse consecuentemente y en referencia a las definiciones anteriormente mencionadas. En una realización, para un varón (18-64 años) el nivel debería ser  $\geq 0,201$  y  $\leq 0,599$ .

#### Niveles de sodio

En relación al sodio, los niveles de sodio en una población de pacientes normal se han comunicado como de 136 a 145 miliequivalentes por litro (mEq/l) de sangre. Las referencias a una cantidad alta o mayor pueden determinarse consecuentemente y con referencia a las definiciones anteriormente mencionadas.

#### Niveles de basófilos

En relación a los basófilos, el nivel de basófilos (ABS) en una población de pacientes normales se ha comunicado como de 0,00-0,20 GI/l (más de 1 año), y también como 0,0-2,0 % (más de 0 años), y las referencias a una cantidad baja o menor pueden determinarse consecuentemente y con referencia a las definiciones anteriormente mencionadas.

#### Niveles de neutrófilos

El criterio primario de clasificación de los neutrófilos ya sean segmentados (maduro) o no segmentados (estadios más jóvenes incluyendo neutrófilos banda, metamielocitos, y mielocitos) es la forma del núcleo. En relación a los neutrófilos, el nivel de neutrófilos (segmentados) en una población de pacientes normales se ha comunicado como del 40,0-75,0 % (más de 18 años), y (ABS) como 1,80-8,00 GI/l (más de 1 año). Los niveles de neutrófilos (bandas) en una población de pacientes normal se han comunicado como del 0,0-8,0 % (más de 18 años), y (ABS) como 0,00-0,86 GI/l (más de 18 años). El nivel de neutrófilos (total) en una población de pacientes normal se ha comunicado como del 40,0-75,0 % (más de 18 años), y (ABS) como 1,80-8,00 GI/l (más de 1 año). Las referencias a una cantidad baja o menor pueden determinarse consecuentemente y con referencia a las definiciones anteriormente mencionadas.

Además de lo anterior, la invención incluye, como aspecto adicional, todas las realizaciones de la invención más limitadas en cuanto a su alcance de cualquier modo que las variaciones mencionadas específicamente anteriormente. Por ejemplo, aunque los aspectos de la invención pueden haberse descrito por referencia a un género o intervalo de valores por brevedad, debe entenderse que cada miembro del género y cada valor o subintervalo dentro del intervalo se prevé como un aspecto de la invención.

#### Breve descripción de los dibujos

Fig 1: Muestra el efecto del calcio corregido inicial en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular la supervivencia de los pacientes de TRIST estratificados según calcio corregido inicial por encima de la mediana frente a por debajo de la mediana.

- Fig 2: Muestra el efecto del calcio corregido inicial en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular la supervivencia de los pacientes de TRIST frente a una serie de diferentes niveles de calcio corregido.
- 5 Fig 3: Muestra el efecto del calcio corregido inicial en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular la supervivencia de los pacientes de TRIST frente a una serie de diferentes niveles de calcio corregido.
- 10 Fig 4: Muestra el efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular la supervivencia de los pacientes de TRIST estratificados según las plaquetas iniciales por encima de la mediana frente a por debajo de la mediana.
- 15 Fig 5: Muestra el efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular la supervivencia de los pacientes de TRIST frente a un intervalo de diferentes niveles de plaquetas.
- 20 Fig 6: Muestra el efecto de la hemoglobina inicial en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular la supervivencia de los pacientes de TRIST frente a un intervalo de diferentes niveles de hemoglobina.
- 25 Fig 7: Muestra el efecto de la creatinina inicial en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular la supervivencia de los pacientes de TRIST frente a un intervalo de diferentes niveles de creatinina.
- Fig 8: Muestra el efecto en particular del calcio corregido, creatinina, hemoglobina y plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST),
- 30 Fig 9: Muestra el efecto de cero factores de inclusión iniciales frente a uno o más de uno de los factores de inclusión: calcio corregido, creatinina, hemoglobina y plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST).
- 35 Fig 10: Muestra el efecto en particular del calcio corregido, creatinina, hemoglobina y plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en un estudio de cáncer renal (TRIST), y en particular las variables iniciales más preferidas.
- 40 Fig 11: Muestra el efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en cuatro estudios de cáncer colorrectal, y, en particular la supervivencia de los pacientes de CRC estratificados según las plaquetas iniciales por encima de la mediana frente a por debajo de la mediana.
- 45 Fig 12: Muestra el efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en cuatro estudios de cáncer colorrectal, y en particular la supervivencia de pacientes de CRC estratificados según las plaquetas iniciales por encima frente a por debajo de un nivel preferido.
- Fig 13: Muestra el efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en cuatro estudios de cáncer colorrectal y dos de cáncer renal, y en particular la supervivencia de los pacientes estratificados según las plaquetas iniciales por encima de la mediana frente a por debajo de la mediana.
- 50 Fig 14: Muestra el efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente en estudios de cáncer renal en un estadio posterior que en la Fig 13, y en particular la supervivencia de los pacientes estratificados según las plaquetas iniciales por encima de lo normal, normales frente a por debajo de lo normal.
- Fig 15: Muestra el efecto de la hemoglobina inicial en la supervivencia del paciente en cuatro estudios de cáncer colorrectal, y en particular la supervivencia de los pacientes de CRC estratificados según niveles de hemoglobina iniciales por encima de la mediana frente a por debajo de la mediana.
- 55 Fig 16: Muestra el efecto de la creatinina inicial en la supervivencia del paciente en cuatro estudios de cáncer colorrectal, y en particular la supervivencia de los pacientes de CRC estratificados según niveles de creatinina iniciales por encima de la mediana frente a por debajo de la mediana.
- 60 Fig 17: Muestra el efecto de los monocitos iniciales en la supervivencia del paciente en estudios de cáncer renal, y en particular la supervivencia de los pacientes estratificados según las plaquetas iniciales por encima de lo normal, normales frente a por debajo de lo normal.
- 65 Fig 18: Muestra el efecto de la hematología normal en la supervivencia del paciente en estudios de cáncer renal, y en particular la supervivencia de los pacientes con hematología normal en cuanto a niveles iniciales normales de monocitos, plaquetas y hemoglobina asociados con una tendencia a un beneficio de la supervivencia.

Fig 19: Muestra la proporción de riesgo ( $\pm$  95 % de IC) representada en función de la concentración inicial de plaquetas. Los niveles de plaquetas iniciales se han segregado en percentiles, y se han anotado los niveles de plaquetas respectivos ( $\times 10^9/l$ ). El número de pacientes que se encuentran dentro de cada categoría se indica a lo largo del eje x con el número de eventos entre paréntesis.

Fig 20: Muestra la relación de riesgo ajustada representada en función de la concentración de monocitos inicial. Los niveles de monocitos iniciales se han segregado en percentiles y se han anotado los respectivos niveles de monocitos ( $\times 10^9/l$ ). El número de pacientes que se encuentran dentro de cada categoría se anotan en el eje x junto con el número de eventos entre paréntesis.

Fig 21: Muestra la relación de riesgo ajustada representada en función de la concentración de inicial de glóbulos blancos sanguíneos (GBS). Los niveles iniciales de GBS se han segregado en percentiles (percentil 10<sup>o</sup>, 25<sup>o</sup> y 50<sup>o</sup> inferior y percentil 50<sup>o</sup>, 25<sup>o</sup> y 10<sup>o</sup> superior) y se han anotado los respectivos niveles de GBS. El número de pacientes que se encuentran dentro de cada categoría se anotan en el eje x junto con el número de eventos entre paréntesis.

Fig 22: Muestra la relación de riesgo ajustada representada en función de la concentración de inicial de hemoglobina. Los niveles de hemoglobina iniciales se han segregado en percentiles (percentil 10<sup>o</sup>, 25<sup>o</sup> y 50<sup>o</sup> inferior y percentil 50<sup>o</sup>, 25<sup>o</sup> y 10<sup>o</sup> superiores) y se han anotado los respectivos niveles de hemoglobina (g/dl). El número de pacientes que se encuentran dentro de cada categoría se anotan en el eje x junto con el número de eventos entre paréntesis.

Descripción detallada

#### Inmunoterapia

Se contempla que los métodos de la invención sean adecuados y aplicables para todos los vectores virales y vectores no virales adaptables para la administración de un gen exógeno a una célula de mamífero para la expresión del gen en la célula. Pueden emplearse una diversidad de vectores virales tal como se divulga en el presente documento. En algunos aspectos preferidos, los vectores virales son deficientes para replicación. Además, tal como se detalla anteriormente, un vector viral puede comprender preferentemente poxvirus tales como un vector viral de vaccinia. Se conocen en la técnica una diversidad de vectores virales de vaccinia y en determinados aspectos, un vector viral de vaccinia para su uso en el presente documento puede ser un virus vaccinia Ankara modificado (MVA). Otras inmunoterapias ejemplares incluyen composiciones que incluyen el antígeno proteínico en sí; o fragmentos o epítomos del antígeno; o vectores para administrar un transgén que codifica el antígeno (por ejemplo, vectores plasmídicos o liposómicos).

En otros aspectos, la inmunoterapia puede comprender un vector viral que puede ser bien el mismo que el vector original o un vector viral diferente, tal como un régimen de vacunación de cebado-refuerzo heterólogo.

En algunos aspectos, los métodos inmunoterapéuticos se refieren a una inmunoterapia de mantenimiento que no comprende al vector viral. Por ejemplo, la inmunoterapia de mantenimiento comprende una composición que comprende el antígeno, o al menos un epítomo del mismo, y un adyuvante o transportador. Por ejemplo, una inmunoterapia de mantenimiento puede comprender un plásmido que contiene una secuencia nucleotídica que codifica al antígeno, unido operativamente a una secuencia de control de la expresión para permitir la expresión del antígeno en células del sujeto mamífero. Dicho método puede comprender opcionalmente, (d) inmunizar al sujeto que tiene una respuesta inmune medible al antígeno con una inmunoterapia de mantenimiento que está libre del vector viral. Las inmunoterapias de mantenimiento ejemplares incluyen composiciones que incluyen el antígeno de proteína en sí mismo; o fragmentos o epítomos del antígeno; o vectores para administrar un transgén que codifica el antígeno (por ejemplo, vectores plasmídicos o liposómicos).

En otros aspectos, la inmunoterapia de mantenimiento puede comprender un vector viral que puede ser bien el mismo que el vector original o un vector viral diferente, tal como un régimen de vacunación de cebado-refuerzo heterólogo.

Del mismo modo, los métodos divulgados en el presente documento son aplicables a la inmunoterapia que utiliza una diversidad de antígenos. En determinados aspectos, un antígeno tal como se define en el presente documento comprende al menos un antígeno tumoral, tal como los antígenos tumorales listados en la descripción detallada a continuación. Por ejemplo, el antígeno tumoral puede comprender un antígeno 5T4. El antígeno 5T4 y los vectores virales que comprenden a 5T4 se han descrito anteriormente, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos n.º 7.148.035.

En una realización, la invención pretende ser aplicable a inmunoterapias dirigidas contra neoplasias malignas. Por lo tanto, en algunas variaciones, el sujeto mamífero para la inmunoterapia es un sujeto que tiene un cáncer, tal como un cáncer que expresa al menos un antígeno tumoral (antígeno asociado a tumor). Preferentemente, un sujeto que tiene un cáncer comprende un cáncer que expresa el mismo antígeno que está comprendido en el vector viral usado para la inmunoterapia. En algunos casos, un sujeto que comprende un cáncer puede ser un sujeto con un cáncer de células renales o un cáncer colorrectal. Preferentemente, un sujeto mamífero es un sujeto humano.

Además de los métodos de inmunoterapia descritos en el presente documento, los sujetos pueden tratarse adicionalmente con una o más terapias adicionales, tales como una terapia considerada el estándar de cuidado para una enfermedad particular, tal como un cáncer. Por ejemplo, la terapia adicional o terapia estándar de cuidado puede ser quimioterapia, radioterapia, cirugía o terapia de citocinas.

En general, una inmunoterapia para su uso en el presente documento se formulará en un vehículo farmacéuticamente aceptable, y puede comprender además conservantes, sales y/o adyuvantes.

#### I. Antígenos asociados a tumores (AAT)

En determinados aspectos, la solicitud se refiere a un antígeno asociado a tumores. Un antígeno asociado a tumores (AAT) o antígenos tumorales adecuados incluyen 5T4. Tal como se usa en el presente documento, las expresiones antígeno asociado a tumor y antígeno tumoral se usan de manera intercambiable. Otros antígenos adecuados incluyen AAT de las siguientes clases: antígenos de cáncer de testículos (por ejemplo, HOM-MEL-40), antígenos de diferenciación (por ejemplo, HOM-MEL-55), productos génicos sobreexpresados (HOM-MD-21), productos génicos mutados (NY-COL-2), variantes de corte y empalme (HOM-MD-397), productos de amplificación génica (HOM-NSCLC-11) y autoantígenos relacionados con el cáncer (HOM-MEL-2.4) tal como se revisa en Cancer Vaccines an immunotherapy (2000) Eds Stern, Beverley y Carroll, Cambridge University Press, Cambridge. Los ejemplos adicionales incluyen MART-1 (Antígeno de Melanoma Reconocido por células T-1), MAGE-A (MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A6, MAGE-A8, MAGE-A10, MAGE-A12), MAGE B (MAGE-B1- MAGE-B24), MAGE B (MAGE-C1/CT7, CT10), GAGE (GAGE-1, GAGE-8, PAGE-1, PAGE-4, XAGE-1, XAGE-3), LAGE (LAGE-1a(1S), -1b(1L), NY-ESO-1), SSX (SSX1-SSX-5), BAGE, SCP-1, PRAME (MAPE), SART-1, SART-3, CTp11, TSP50, CT9/BRDT, gp100, MART-1, TRP-1, TRP-2, MELAN-A/MART-1, Antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno específico de próstata (PSA), MUCIN (MUC-1) y Tirosinasa. Los AAT se revisan en Cancer Immunology (2001) Kluwer Academic Publishers, Países Bajos. Los antígenos asociados a tumores adicionales incluyen Her-2, survivina y TERT.

El término "antígeno" se refiere a una proteína o péptido que se va a introducir en un sujeto. Tal como se describe en el presente documento, un antígeno puede proporcionarse mediante la administración de un péptido proteína o mediante la administración de un ácido nucleico que codifica a un péptido o proteína.

Por "antígeno" en el contexto de la presente invención también se entiende que incorpora un péptido antigénico procedente de un antígeno. En particular, se pretende que "antígeno asociado a tumor" abarque un péptido procedente de un antígeno asociado a tumores.

Un antígeno, tal como un antígeno asociado a tumores, puede proporcionarse para su uso como un medicamento mediante una serie de diferentes modos. Puede administrarse como parte de un vector viral. Los expertos en la materia estarán familiarizados con una serie de vectores virales adecuados, e incluyen una serie de vectores descritos en el presente documento.

#### II. Vacuna TroVax®

TroVax® consiste en una cepa altamente atenuada de virus vaccinia (VV), denominada Vaccinia Ankara Modificada (MVA), y contiene el gen de la glucoproteína 5T4 de AAT humano bajo el control regulador de un promotor modificado, mH5. Por lo tanto, por "TroVax®" se incluye Vaccinia Ankara Modificada, (MVA), que contiene el gen de la glucoproteína 5T4 de AAT humano, y preferentemente bajo el control regulador de un promotor modificado, mH5.

MVA se desarrolló como una vacuna segura para la viruela y MVA procedía de la cepa Ankara de VV mediante pase en fibroblastos embrionarios de pollo (CEF) primarios, tras lo que se descubrió que era defectuosos para replicación en todas las líneas celulares de mamífero ensayadas, excepto para células de riñón de cría de hámster (BHK-21). El análisis genético molecular de MVA ha revelado diferencias sustanciales respecto del virus vaccinia competente para replicación, lo que indica que la reversión de la atenuación es altamente improbable. MVA no es patogénico en mamíferos, incluyendo ratones lactantes, conejos y primates. De manera importante, no se comunicaron complicaciones cuando se administró MVA a más de 120.000 sujetos, muchos de los cuales estaban en riesgo de complicaciones a causa de la vacuna. La replicación de las cepas competentes de VV se manipula en un ambiente de Bioseguridad de nivel II; sin embargo, se le ha asignado a MVA un estado de Bioseguridad de nivel I por el Intramural Biosafety Committee de los National Institutes of Health en los Estados Unidos, por el Health and Safety Executive en el Reino Unido y por las autoridades de bioseguridad en Alemania.

5T4 es una glucoproteína oncofetal de 72 kDa que se expresa en más del 70 % de los carcinomas de riñón, de mama, tracto gastrointestinal, colon y ovarios. A diferencia de otros AAT autoantígenos, tales como CEA, la expresión de 5T4 detectada mediante tinción histoquímica parece ser específica de tumor con una tinción esporádica solo de bajo nivel observada en el intestino y la pituitaria. Sin embargo, este nivel de tinción es tan bajo que es difícil determinar si es específico. Los tumores positivos a 5T4 incluyen carcinoma invasivo de la Ampolla de Vater, de mama, de colon, endometrio, páncreas, o estómago; un carcinoma escamosos de vejiga, de cuello de útero, pulmón o esófago; un adenoma tubulovelloso de colon; un tumor Muleriano mixto maligno del endometrio; un carcinoma de células claras del riñón; un cáncer de pulmón (macroscópico indiferenciado, carcinoma de células

gigantes, carcinoma bronco-alveolar, leiomiocarcinoma metastásico; un cáncer de ovarios (un tumor de Brenner, cistadenocarcinoma, teratoma sólido); un cáncer de testículos (seminoma, teratoma cístico maduro); un fibrosarcoma de tejidos blandos; un teratoma (tumores de células germinales anaplásicas); o un cáncer trofoblástico (coriocarcinoma (por ejemplo, en útero, pulmón o cerebro), tumor del sitio placentario, mola hidatidiforme). El análisis inmunohistoquímico indica que la expresión de 5T4 es un indicador de un mal pronóstico en el cáncer colorrectal. Además, cuando las células tumorales se transfectan con el ADNc que codifica a 5T4, muestran una motilidad aumentada, lo que sugiere que la expresión de esta molécula puede inducir propiedades metastásicas en un tumor.

TroVax® es capaz de inducir una respuesta de anticuerpos anti-5T4 en ratones. Además, dicha respuesta es capaz de prevenir el establecimiento de células tumorales singenéticas que expresan 5T4 humano en dos modelos de tumor murino. Para modelar de manera más precisa los posibles efectos antitumorales de TroVax® en seres humanos, se construyeron recombinantes de MVA que expresaban el homólogo murino de 5T4 (m5T4). En este modelo de autoantígeno se observó la inducción por MVA-m5T4 de una respuesta de anticuerpos para m5T4. Además, dicha respuesta es capaz de retrasar o prevenir el establecimiento de células tumorales singenéticas que expresan m5T4. Los ratones se habían vacunado en cuatro ocasiones con MVA-m5T4 y no ha habido informes de toxicidad. Además, una serie de estudios han explorado las consecuencias toxicológicas de la inmunización con TroVax®. Los ratones se han inmunizado con hasta 12 administraciones repetidas de TroVax®. No hubo muertes o efectos adversos relacionados con TroVax® en los signos clínicos, del peso corporal, consumo de alimento, peso de órganos o patología clínica. No hubo hallazgos macroscópicos o microscópicos que sugieran toxicidad sistémica debido a los artículos de ensayo.

Debido a que 5T4 es un antígeno oncofetal, los ratones, previamente vacunados con MVA-m5T4, se usaron para cría. Se halló que la inmunidad a m5T4 no tenía un efecto perjudicial en la capacidad de los ratones para concebir o para alumbrar una descendencia sana. En un estudio más detallado, se administró a ratones hembra aproximadamente 107 ufp de TroVax® o MVA-m5T4 o placebo a los 21 y 14 días antes de su emparejamiento con machos o tratados y, para las hembras preñadas, en el día 6 de la gestación. Las hembras preñadas se mantuvieron hasta el día 18 de gestación y después los animales inyectados y sus respectivos fetos se analizaron macroscópicamente durante la necropsia. Todas las observaciones clínicas y los hallazgos de la necropsia no fueron destacables. La tasa de fertilidad fue ligeramente menor en los grupos a los que se les había administrado tanto TroVax® como MVA-m5T4 en comparación con el control. La significación toxicológica de este hallazgo es incierta pero puede reflejar un impacto del tratamiento en el comportamiento de cría. No hubo un efecto adverso del tratamiento con TroVax® o MVA-m5T4 en los datos uterinos/de implantación o fetales. En resumen, no hubo toxicidad en las hembras o maternal ni toxicidad embrio-fetal en cualquiera de los grupos. El examen histológico de los tejidos de los animales de MVA-m5T4 no reveló hallazgos microscópicos adversos.

Es evidente a partir de los estudios preclínicos que TroVax® tiene un bajo potencial para inducir toxicidad pero es probable que induzca una respuesta inmune eficaz a 5T4. Los estudios *in vivo* sugieren que dicha respuesta inmune tendrá una actividad antitumoral.

TroVax® se ha administrado a más de 400 pacientes con cáncer colorrectal metastásico o renal. Se han administrado más de 3000 dosis. No se han comunicado efectos adversos graves atribuidos a TroVax® por los investigadores o los patrocinadores. En la mayoría de los pacientes se comunican reacciones en el sitio de la inyección transitorias leves junto con una pirexia transitoria leve. No se han comunicado otros efectos adversos destacables, comunes o graves en los estudios que usan TroVax® como único agente en pacientes fuertemente tratados previamente o en estudios que combinaban TroVax® con quimioterapia (5FU y leucovorina combinado con oxaliplatino o irinotecán), interferón  $\alpha$ , IL-2 (régimen intravenoso a altas dosis o inyecciones subcutáneas de baja dosis) o con sunitinib.

#### Tratamiento para el cáncer

La presente invención es particularmente adecuada para su uso en la predicción de la respuesta a los agentes inmunoterapéuticos anteriormente mencionados en pacientes o poblaciones de pacientes con un cáncer. Dichos cánceres incluyen, por ejemplo, tumores no sólidos tales como leucemia, mieloma múltiple o linfoma, y también tumores sólidos, por ejemplo tumores del conducto biliar, hueso, vejiga, cerebro/SNC, de mama, colorrectal, de cuello de útero, endometrial, gástrico, de cabeza y cuello, hepático, pulmón, músculo, neuronal, esofágico, ovárico, pancreáticos, membranasplerales/peritoneales, de próstata, renal, de piel, testicular, tiroides, placentario, uterino y vulvar.

La presente invención es particularmente adecuada para identificar aquellos pacientes con cáncer renal, colorrectal, de mama, de próstata o de ovarios, más particularmente cáncer renal o colorrectal que responderán al tratamiento con agentes inmunoterapéuticos, tales como TROVAX® tal como se ha definido anteriormente en el presente documento.

#### Muestra

Tal como se usa en el presente documento, el término "muestra" pretende significar cualquier fluido biológico, célula, tejido, órgano o porción del mismo. El término incluye muestras presentes en un individuo así como muestras

obtenidas o procedentes del individuo. Por ejemplo, una muestra puede ser una sección histológica o un espécimen obtenido por biopsia, o muestras que se colocan o se adaptan para cultivo tisular. Además, una muestra puede ser una fracción o extracto subcelular, o una preparación de proteína en bruto o sustancialmente pura.

- 5 En los métodos de la invención, una muestra puede ser, por ejemplo, una célula o tejido obtenido usando un procedimiento de biopsia o puede ser una muestra de fluido que contiene células, tal como sangre, suero, semen, orina, o heces. Los expertos en la materia serán capaces de determinar una muestra adecuada, que dependerá del tipo de cáncer, y un método adecuado para obtener una muestra de biopsia, si fuera necesario. Cuando sea posible, puede ser preferible obtener una muestra del paciente usando el medio de recogida menos invasivo. Por ejemplo, la obtención de una muestra fluida de un paciente, tal como sangre, saliva, suero, semen, orina o heces es menos invasiva que recoger una muestra de tejido.

#### Nivel de referencia

- 15 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "nivel de referencia" se refiere a un nivel de control de la expresión de un factor o biomarcador usado para evaluar un nivel de prueba de expresión de un factor o biomarcador en una muestra de un paciente. Por ejemplo, cuando el nivel de calcio corregido en el paciente es mayor que el nivel de referencia de calcio corregido, se considerará que el paciente tiene un alto nivel de calcio corregido. Por el contrario, cuando el nivel de calcio corregido en el paciente es menor que el nivel de referencia, se considerará que el paciente tiene un bajo nivel de calcio corregido. En otro ejemplo, cuando el nivel de plaquetas en el paciente es mayor que el nivel de referencia de plaquetas, se considerará que el paciente tiene un alto nivel de plaquetas. Por el contrario, cuando el nivel de plaquetas en el paciente es menor que el nivel de referencia, se considerará que el paciente tiene un bajo nivel de plaquetas. En un ejemplo adicional, cuando el nivel de hemoglobina en el paciente es mayor que el nivel de referencia de hemoglobina, se considerará que el paciente tiene un alto nivel de plaquetas. Por el contrario, cuando el nivel de hemoglobina en el paciente es menor que el nivel de referencia, se considerará que el paciente tiene un bajo nivel de hemoglobina. De manera similar, cuando el nivel de creatinina en el paciente es mayor que el nivel de referencia de creatinina, se considerará que el paciente tiene un alto nivel de creatinina. Por el contrario, cuando el nivel de creatinina en el paciente es menor que el nivel de referencia, se considerará que el paciente tiene un bajo nivel de creatinina. De manera similar, cuando el nivel de monocitos en el paciente es mayor que el nivel de referencia de monocitos, se considerará que el paciente tiene un alto nivel de monocitos. Por el contrario, cuando el nivel de monocitos en el paciente es menor que el nivel de referencia, se considerará que el paciente tiene un bajo nivel de monocitos. Además, cuando el nivel de GBS en el paciente es mayor que el nivel de referencia de GBS, se considerará que el paciente tiene un alto nivel de GBS. Por el contrario, cuando el nivel de GBS en el paciente es menor que el nivel de referencia, se considerará que el paciente tiene un bajo nivel de GBS.

- En algunas variaciones, el nivel de referencia puede ser la medida de un intervalo o una media o media de un biomarcador calculado a partir de una diversidad de sujetos mamíferos a los que se le ha propuesto la inmunoterapia o no necesitan inmunoterapia. Cuando la referencia es un promedio o mediana, se puntúa una medida para el nivel de biomarcador por encima de la referencia como elevada y se puntúa una medida por debajo de la medida de referencia como reducida. Cuando la referencia es un intervalo, se puntúa una medida para el biomarcador alrededor o por encima del nivel superior para la medida de referencia como elevada y se puntúa una medida alrededor o por debajo del nivel inferior para la medida de referencia como reducida. En otras variaciones, se puntúa que una medida que varía estadísticamente respecto de la mediana o media en una cantidad significativa adecuada (por ejemplo, 1 o 1,5 o 2 desviaciones estándar; o mediante un "valor de p" u otra medida de significación estadística) como elevada o reducida.

- En otras variaciones, un nivel de referencia puede ser una medida inicial o cualquier otra medida absoluta para una herramienta de ensayo particular. En dichas variaciones, un nivel elevado o un nivel reducido puede representar valores que son un múltiplo determinado o fracción del valor de referencia.

- Algunos aspectos de la invención implican la exploración o la determinación de la presencia de una diferencia medible a partir del nivel de referencia. Medible puede definirse como un nivel mayor o menor que una respuesta inicial, y más preferentemente al menos 2, 5, 10, 50, 100 o 1000 veces por encima o por debajo de una respuesta inicial. En los casos donde no hay una respuesta inicial medible, puede definirse una respuesta inicial como el límite inferior de detección del ensayo usado para medir el nivel.

- El nivel de referencia puede determinarse mediante una diversidad de métodos, siempre que el nivel de referencia resultante proporcione un nivel de un biomarcador de manera precisa por encima del cual existe un primer grupo de pacientes que tienen una diferente probabilidad de supervivencia que aquella de un segundo grupo de pacientes que tienen niveles del biomarcador por debajo del nivel de referencia. El nivel de referencia puede determinarse mediante, por ejemplo, la medición del nivel de un biomarcador en una muestra no de tumor como muestra del paciente que se va a ensayar. El nivel de referencia también puede ser un nivel de un biomarcador de células cultivadas *in vitro* que pueden manipularse para estimular células tumorales, o puede manipularse de cualquier otro modo que produzcan niveles del biomarcador que determinen de manera precisa el nivel de referencia.



El nivel de referencia también puede determinarse mediante comparación del nivel de un biomarcador, tal como monocitos, GBS, calcio corregido, recuento de plaquetas, hemoglobina o creatinina, en poblaciones de pacientes que tienen el mismo cáncer. Esto puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante análisis de histogramas, en el que una cohorte entera de pacientes se representa gráficamente, en el que un primer eje representa el nivel del biomarcador, y un segundo eje representa el número de pacientes en la cohorte cuyas muestras contienen el biomarcador a un nivel determinado. Pueden determinarse dos o más grupos separados de pacientes mediante la identificación de subconjuntos de poblaciones de la cohorte que tienen los mismos niveles o similares del biomarcador. La determinación del nivel de referencia puede entonces efectuarse basándose en un nivel que distingue mejor estos grupos separados. Un nivel de referencia también puede representar los niveles de dos o más marcadores. Pueden representarse dos o más marcadores, por ejemplo, mediante una relación de valores para niveles de cada biomarcador.

El nivel de referencia puede ser un número sencillo, igualmente aplicable a cada paciente, o el nivel de referencia puede variar, de acuerdo con subpoblaciones de pacientes específicas. Por ejemplo, los hombres mayores pueden tener un nivel de referencia diferente al de los hombres jóvenes para el mismo cáncer, y las mujeres pueden tener un nivel de referencia diferente que para los hombres con el mismo cáncer. Además, el nivel de referencia puede ser algún nivel determinado para cada paciente de manera individual. Por ejemplo, el nivel de referencia podría ser una determinada proporción de un biomarcador en las células neoplásicas de un paciente en relación a los niveles del biomarcador en células no tumorales del mismo paciente. Por lo tanto, el nivel de referencia para cada paciente puede circunscribirse a una relación de referencia de uno o más biomarcadores, tales como calcio corregido o recuento de plaquetas, en el que el nivel de referencia puede determinarse mediante cualquiera de los métodos para determinar los niveles de referencia descritos en el presente documento.

El nivel de referencia puede determinarse midiendo el nivel inicial de un biomarcador antes de comenzar la inmunoterapia.

Un alto nivel de un biomarcador, tal como calcio corregido, niveles de plaquetas, hemoglobina o creatinina pueden relacionarse con un nivel del biomarcador por encima de un nivel de referencia determinado. Por lo tanto, un nivel de referencia o inicial de un biomarcador, tal como calcio corregido, niveles de plaquetas, hemoglobina o creatinina en una muestra se identifica como un valor de "corte", por encima del cual hay una correlación significativa entre la presencia del biomarcador y una recurrencia o difusión del tumor aumentada o disminuida. Los expertos en la materia reconocerán que algunos valores de "corte" no son críticos en tanto que las correlaciones clínicas siguen siendo significativas a lo largo de un intervalo de valores en cada lado del valor de corte; sin embargo, es posible seleccionar un valor de corte óptimo (por ejemplo, variando las puntuaciones de H, y similares) de un nivel de un biomarcador para un tipo celular de cáncer. Se entiende que pueden determinarse mejoras en los valores de corte óptimos, dependiendo de la sofisticación de los métodos estadísticos usados y del número y fuente de las muestras usadas para determinar los niveles de referencia o iniciales.

La verificación de que el nivel de referencia distingue la probabilidad de la recurrencia o difusión tumoral en los pacientes con cáncer que expresan niveles de biomarcador por debajo del de referencia frente a pacientes con cáncer que expresan niveles de biomarcador por encima del de referencia puede llevarse a cabo usando un análisis de una sola variable o multivariable. Estos métodos determinan la probabilidad de una correlación entre una o más variables y un resultado dado. En el caso específico, los métodos determinarán la probabilidad de una correlación entre un nivel de biomarcador, o los niveles de más de un biomarcador (o un nivel de biomarcador acoplado con otra variable) y la supervivencia libre de enfermedad o general de los pacientes con cáncer. Puede usarse uno cualquiera de una diversidad de métodos bien conocidos para los expertos habituales en la materia para llevar a cabo estos análisis. Los ejemplos de análisis de variable única son el método de Kaplan Meier o la prueba de rangos logarítmicos. Un ejemplo de análisis multivariable es el modelo de regresión de riesgos proporcional de Cox.

El estimador de Kaplan Meier usado en los ejemplos (también conocido como el estimador de límite de producto) estima la función de supervivencia a partir de los datos del tiempo de vida. En investigación médica, puede usarse para medir la fracción de pacientes que sobreviven durante un determinado tiempo después del tratamiento. La función de supervivencia, también conocida como la *función de superviviente* o *función de fiabilidad*, es una propiedad de cualquier variable al azar que mapea un conjunto de eventos, normalmente asociados con la mortalidad o fallo de algún sistema, a lo largo del tiempo. Captura la probabilidad de que el sistema sobreviva más allá de un tiempo especificado. La expresión *función de fiabilidad* es común en ingeniería mientras que la expresión *función de supervivencia* se usa en un intervalo más amplio de aplicaciones, incluyendo la mortalidad en seres humanos.

La determinación de niveles de referencia basada en población, por ejemplo, mediante análisis de histogramas, puede llevarse a cabo usando una cohorte de paciente suficiente en tamaño para determinar dos o más grupos separados de pacientes que tienen diferentes niveles de biomarcadores. Típicamente, dicha cohorte comprende al menos 25 pacientes, tal como al menos 50 pacientes, incluyendo al menos 75 pacientes, y al menos 100 pacientes. De manera similar, la verificación de determinados niveles de referencia también puede comprender al menos 25 pacientes, tal como al menos 50 pacientes, incluyendo al menos 75 pacientes, y al menos 100 pacientes.

Además, aunque un nivel de referencia puede separar dos grupos de pacientes, se encuentra dentro del alcance de la invención que puedan existir numerosos valores de referencia que separen una diversidad de poblaciones. Por ejemplo, dos valores de referencia pueden separar un primer grupo de pacientes con altos niveles de un biomarcador de un segundo grupo de pacientes con niveles intermedios del biomarcador, y de un tercer grupo de pacientes con bajos niveles del biomarcador. El número de diferentes niveles de referencia puede ser suficiente para delinear una curva, tal como una línea continua, que describe la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad o general en un paciente en función del nivel de biomarcador en ese paciente. Dicha curva puede constituir un nivel de biomarcador "continuo", donde la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad o general en un paciente es proporcional al nivel de biomarcador en ese paciente. También pueden representarse dos o más niveles de biomarcador mediante dicha curva.

#### Combinaciones adicionales

El nivel de referencia de un biomarcador, tal como monocitos, recuento de plaquetas, hemoglobina o GBS, puede usarse conjuntamente con otra variable que se considere un indicador estadísticamente significativo de la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad o general para el cáncer. Dichos indicadores incluyen la presencia o niveles de marcadores del cáncer conocidos, o pueden ser indicadores clínicos o patológicos (por ejemplo, la edad, tamaño del tumor, histología del tumor, estadio clínico, historial familiar y similares). Por ejemplo, el estadio clínico del cáncer es también un indicador estadísticamente significativo de la supervivencia libre de enfermedad o general, en el que el nivel de referencia de un biomarcador puede variar de acuerdo con el estadio clínico del cáncer. Por ejemplo, el nivel de un biomarcador, tal como un bajo nivel de monocitos, recuento de plaquetas, y/o GBS, y/o un alto nivel de hemoglobina conjuntamente con un estadio clínico II del cáncer para un paciente dado, junto con los indicadores de probabilidad aumentada de supervivencia libre de enfermedad o general. De este modo, el nivel de referencia de un biomarcador puede variar en función de otro indicador estadísticamente significativo de supervivencia libre de enfermedad o general para el cáncer.

El uso de dos o más biomarcadores puede proporcionar una confianza aumentada en el resultado pronóstico. Por ejemplo, tal como se divulga en el presente documento, las combinaciones de bajos monocitos y bajo recuento de plaquetas se correlacionaron con una supervivencia libre de enfermedad aumentada. Por lo tanto, las combinaciones de biomarcadores útiles en los métodos pronósticos de la invención incluyen, por ejemplo, monocitos, GBS, recuento de plaquetas, hemoglobina, y una diversidad de otras combinaciones con biomarcadores tales como calcio corregido, cloruro, creatinina, eosinófilos, hematocrito, sodio, basófilos, calcio en suero, y neutrófilos y una diversidad de otros biomarcadores generales y específicos de tumor, tales como marcadores diagnósticos disponibles comercialmente.

#### Supervivencia

En un aspecto de la presente invención se persigue lograr una supervivencia del paciente aumentada, incluyendo supervivencia libre de progresión, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia general, y también reducir el riesgo de recurrencia y/o metástasis. Tal como se usa en el presente documento, la expresión "supervivencia libre de enfermedad" incluye la ausencia de recurrencia y/o difusión del tumor y el destino de un paciente después del diagnóstico, por ejemplo, un paciente que está vivo sin recurrencia del tumor. La expresión "supervivencia general" se refiere al destino del paciente después del diagnóstico, independientemente de si el paciente tiene recurrencia del tumor.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "riesgo de recurrencia" se refiere a la probabilidad de recurrencia o difusión del tumor en un paciente posteriormente al diagnóstico del cáncer, en el que la probabilidad se determina de acuerdo con el proceso de la invención.

La recurrencia del tumor se refiere a un crecimiento adicional de células neoplásicas o cancerosas después del diagnóstico del cáncer. En particular, la recurrencia puede suceder cuando tiene lugar un crecimiento de células cancerosas adicional en el tejido canceroso. La difusión tumoral se refiere a la diseminación de células del cáncer en tejidos y órganos locales o distantes, por ejemplo, durante la metástasis del tumor. La recurrencia del tumor, en particular, la metástasis, es una causa significativa de mortalidad entre los pacientes que se han sometido a un tratamiento quirúrgico para el cáncer. Por lo tanto, la recurrencia o diseminación del tumor se correlaciona con la supervivencia libre de progresión, la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia general del paciente.

La supervivencia libre de progresión indica las probabilidades de permanecer libre de progresión de la enfermedad después de un tratamiento particular.

#### Beneficio

Tal como se usa en el contexto de un ciclo de tratamiento, "beneficio" se refiere a la capacidad del ciclo de tratamiento para disminuir el riesgo de recurrencia o difusión del tumor, y por lo tanto de aumentar la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad, libre de progresión, o general del paciente.

Los métodos de la invención para determinar un pronóstico de supervivencia para un paciente de cáncer son aplicables a pacientes en cualquier estadio de progresión tumoral, y además pueden usarse para determinar un estadio de progresión del tumor. Un estadio de un tumor se refiere al grado de progresión de un tumor. Los expertos en la materia conocen bien varios estadios de desarrollo del tumor, tal como se ejemplifica en Markman, "Basic Cancer Medicine", Saunders, (ed. Zorab, R.) (1997). Por ejemplo, los cánceres pueden estadificarse en tres estadios generales, localizado, difusión regional, y difusión distante. También pueden estadificarse los cánceres usando el sistema TNM, que tiene en consideración el alcance de difusión directa dentro de los tejidos afectados y cercanos, el alcance de la difusión a los nódulos linfáticos cercanos, y el alcance de la difusión a órganos distantes. Basándose en estas características, la difusión de los cánceres puede resumirse asignando número romanos desde 0 hasta IV. Los expertos en la materia pueden seleccionar un sistema de estadificación adecuado para un tipo de cáncer particular.

En particular, el cáncer de colon puede estadificarse usando los sistemas de Dukes, Astler-Coller y AJCC/TNM, que describen la difusión del cáncer en relación a las capas de la pared del colon o recto, órganos próximos al colon y el recto, y otros órganos más distantes. El estadio A de Dukes es equivalente al estadio I de AJCC/TNM y al estadio A, BI de Astler-Coller; El estadio B de Dukes es equivalente al estadio II de AJCC/TNM y al estadio B2, B3 de Astler-Coller. El estadio C de Dukes es equivalente al estadio III de AJCC/TNM y al estadio C1, C2, C3 de Astler-Coller. Los estadios de AJCC/TNM del cáncer colorrectal son los siguientes: Estadio 0: el cáncer no ha crecido más allá de la capa interna (mucosa) del colon o recto. Este estadio también se conoce como carcinoma *in situ* o carcinoma intramucosal; Estadio I: el cáncer ha crecido a través de la mucosa en la submucosa, o también puede haber crecido en la muscularis propia, pero no se ha diseminado fuera de la pared en sí a tejidos cercanos tales como los nódulos linfáticos; Estadio II: el cáncer ha crecido a través de la pared del colon o recto, hacia las capas más externas y pueden haber invadido otros tejidos cercanos, pero aún no se ha diseminado a los nódulos linfáticos próximos; Estadio III: el cáncer puede ser de cualquier tamaño, pero se ha diseminado a 3 o menos nódulos linfáticos cercanos, o se ha diseminado a 4 o más nódulos pero no se ha diseminado a otras partes del organismo; Estadio IV: el cáncer se ha diseminado a órganos distantes, tales como el hígado, pulmón, peritoneo u ovarios.

Los sistemas de estadificación para el cáncer renal se basan en el grado de diseminación tumoral más allá del riñón. La implicación de los vasos sanguíneos puede no ser un mal signo pronóstico si el tumor está confinado de otro modo en la sustancia del riñón. Los resultados anormales de las pruebas de función hepática pueden deberse a un síndrome paraneoplásico que es reversible con la extirpación del tumor y no representa necesariamente una enfermedad metastásica. Excepto cuando el examen por tomografía computerizada (TC) es equivoco o cuando los materiales de contraste yodados están contraindicados, la TC es tan buena o mejor que la obtención de imágenes por resonancia magnética (IRM) para detectar las masas renales.

El American Joint Committee on Cancer (AJCC) ha designado la estadificación mediante la clasificación TNM.

#### Definiciones TNM

##### Tumor primario (T)

- \* TX: no puede evaluarse tumor primario
- \* T0: no hay evidencias de tumor primario
- \* T1: tumor de 7 cm o menos en su dimensión mayor limitado al riñón
- \* T2: tumor de más 7 cm en la dimensión mayor limitado al riñón
- \* T3: el tumor se extiende a las venas principales o invade la glándula adrenal o los tejidos periféricos pero no más allá de la fascia de Gerota
- \* T3a: el tumor invade la glándula adrenal o los tejidos periféricos pero no más allá de la fascia de Gerota
- \* T3b: el tumor se extiende en gran medida en la vena o venas renales o la vena cava por debajo del diafragma
- \* T3c: el tumor se extienden en gran medida en la vena o las venas renales o la vena cava por encima del diafragma
- \* T4: el tumor invade más allá de la fascia de Gerota

##### Nódulos linfáticos regionales (N)

- \* NX: no pueden evaluarse los nódulos linfáticos regionales
- \* N0: sin metástasis en los nódulos linfáticos regionales
- \* N1: metástasis en un solo nódulo linfático regional
- \* N2: metástasis en más de un nódulo linfático regional
- \* [Nota: la lateralidad no afecta a la clasificación de N].

##### Metástasis distante (M)

- \* MX: no puede evaluarse metástasis distante
- \* M0: sin metástasis distante
- \* M1: metástasis distante

agrupamientos de estadio de AJCC

Estadio I

\* T1, N0, M0

Estadio II

\* T2, N0, M0

Estadio III

\* T1, N1, M0

\* T2, N1, M0

\* T3a, N0, M0

\* T3a, N1, M0

\* T3b, N0, M0

\* T3b, N1, M0

\* T3c, N0, M0

\* T3c, N1, M0

Estadio IV

\* T4, N0, M0

\* T4, N1, M0

\* Cualquier T, N2, M0

\* Cualquier T, Cualquier N, M1

Debe entenderse que los estadios tempranos del desarrollo tumoral se refieren a estadios en el desarrollo tumoral en el que el tumor se ha diseminado de manera detectable no más allá de los nódulos linfáticos locales del órgano del tumor primario. Típicamente, los estadios tempranos se considerarán como estadios I y II.

Métodos analíticos

Se usaron los siguientes métodos analíticos en los siguientes Ejemplos, y pueden ser usados de manera útil para determinar los niveles adecuados de los biomarcadores en la presente invención:

ENSAYO	MÉTODO/INSTRUMENTO
Creatinina en Suero	Olympus AU640/2700/5400

Principio analítico:

Este procedimiento emplea una modificación cinética del método de Jaffe clásico que se describió por primera vez en 1886. Implica la reacción de creatinina y solución de picrato alcalina para producir un tautómero de color rojo de picrato de creatinina del que se mide la absorbancia bicromáticamente a 520 nm/660 nm. La siguiente reacción sucede a 37 °C:



El método mide la absorbancia de la muestra a una longitud de onda primaria de 520 nm y la compara con la absorbancia producida por un calibrador conocido. El resultado se imprime directamente en mg/dl.

ENSAYO	MÉTODO/INSTRUMENTO
SANGRE COMPLETA	Versión BECMAN: 7
RECUENTO	COULTER
(incluye la medida de Hemoglobina y monocitos, GBS y recuento de plaquetas)	GENS/LH750/LH780

El Coulter emplea recuento y medición del tamaño de las partículas electrónicos para cuantificar y evaluar las células sanguíneas. El análisis y la clasificación diferencial de GBS gen S/LH750/LH780 se basan en la medición simultánea del volumen celular, productividad de alta frecuencia y difusión de luz láser. La hemoglobina, liberada mediante la hemólisis a un pigmento que contiene cianuro estable o a un hemacromagén basado en oxihemoglobina, se mide mediante absorbancia fotométrica.

ENSAYO	MÉTODO/INSTRUMENTO
Calcio corregido	calculado usan la fórmula: $[(4 - \text{g/dl de albúmina sérica}) * 0,8 + \text{mg/dl de calcio en suero}]$

Se miden la albúmina sérica y el calcio.

ENSAYO	MÉTODO/INSTRUMENTO
Albúmina en Suero	Olympus AU640/2700/5400

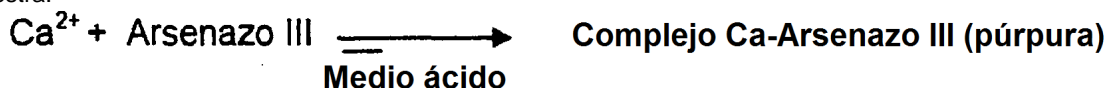
Principio analítico:

5 Este procedimiento se basa en la capacidad de unión a colorante de la albúmina. La albúmina reacciona con verde de bromocresol a pH 4,0 para formar un color verde. Se mide el aumento en color bicromáticamente (600/800 nm) y es proporcional a la cantidad de albúmina presente. El método Olympus mide la absorbancia de la muestra a una longitud de onda primaria de 600 nm y la compara con la absorbancia producida por calibradores conocidos. El resultado se imprime directamente en g/dl.

ENSAYO	MÉTODO/INSTRUMENTO
Calcio en Suero	Olympus AU640/2700/5400

Principio analítico:

15 Este procedimiento de calcio de Olympus se basa en los iones de calcio (Ca<sup>2+</sup>) que reaccionan con arsenazo III (ácido 2,2'-[1,8- dihidroxi-3,6-disulfonaftilen-2,7-bisazo]-bisbenceneársónico) para formar un complejo de color púrpura intenso. El magnesio no interfiere de manera significativa en la determinación de calcio usando arsenazo III. En este método, se mide la absorbancia del complejo Ca-arsenazo III bicromáticamente a 660/700 nm. El aumento resultante de la absorbancia de la mezcla de reacción es directamente proporcional a la concentración de calcio en la muestra.



**Ejemplos**

Ejemplo 1: Detalles del estudio - TRIST

25 El estudio se denominó TRIST: TroVax® Renal Immunotherapy Survival Trial (Ensayo de Supervivencia a Inmunoterapia Renal TroVax®). Un estudio de fase II, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado con placebo de grupos paralelos para investigar si TroVax® añadido a la terapia de cuidado convencional de primera línea prolonga la supervivencia de los pacientes con adenocarcinoma de células claras renales localmente avanzado o metastásico.

30 El propósito principal de este ensayo es demostrar el efecto de TroVax® en la supervivencia de pacientes con adenocarcinomas de células claras renales localmente avanzado o metastásico. Los adenocarcinomas de células claras del riñón expresan de manera uniforme 5T4 a altas concentraciones (80-90 % de los tumores examinados) y por lo tanto son un candidato evidente para el tratamiento con una vacuna de 5T4.

35 La mediana de tiempo de supervivencia comunicada para esta indicación varía según los estudios pero generalmente se encuentra en el intervalo de 6 a 18 meses dependiendo del estado del paciente en el momento de su inclusión y en menor medida del tratamiento. Se necesitan urgentemente nuevas formas de tratamiento.

40 Este estudio evaluará el impacto en la supervivencia de la adición de TroVax® al cuidado convencional de primera línea para el cáncer renal. El estándar de cuidado actual varía entre países e instituciones y está influenciado por el estado del paciente, del estado regulatorio nacional de diferentes tratamientos y de las consideraciones de reembolso locales. Los cuidados convencionales aceptados comúnmente para el cáncer renal incluyen IL-2, IFNα, o un inhibidor de tirosina cinasas receptoras, tal como sunitinib. El uso y disponibilidad de estos tratamientos varía geográficamente.

45 La IL-2 a altas dosis, aunque está aprobada para el tratamiento del cáncer renal no se incluye en este estudio debido a la alta incidencia de sucesos adversos graves y a que la necesidad de cuidados intensivos limita su aplicación y podría complicar la evaluación de seguridad de TroVax®.

50 El razonamiento para el potencial uso concurrente de IL-2 es que se cree que este compuesto actúa como adyuvante. La IL-2 es actualmente uno de los regimenes de cuidado convencionales para el tratamiento de primera línea del cáncer renal avanzado y metastásico. La pauta de dosificación de IL-2 seleccionada está bien reconocida por la comunidad oncológica y se ha validado en ensayos clínicos de fase III a gran escala. Más de 30 pacientes tratados con una combinación de TroVax® e IL-2 (regímenes de altas dosis por vía intravenosa o bajas dosis por vía subcutánea) han sido evaluados en estudios de fase II en pacientes con cáncer renal. La combinación se toleró bien. En comparación con el perfil de sucesos adversos histórico de IL-2 sola, los únicos sucesos adversos adicionales comunicados fueron reacciones locales mínimas en el sitio de inyección de TroVax® y una pirexia transitoria leve. La

respuesta inmunitaria humoral y/o celular a 5T4 se indujo en prácticamente todos los pacientes y se han comunicado respuestas objetivas mediante RECIST.

Aunque no está claro si los efectos biológicos de IFN $\alpha$  suceden en su integridad o en parte a través de la inmunostimulación, hay pruebas que demuestran que tiene un efecto clínico modesto en los pacientes con cáncer renal con una tasa de respuesta objetiva de aproximadamente el 7,5-15 %. Los estudios para determinar si IFN $\alpha$  aumenta la supervivencia en pacientes con cáncer renal han producido resultados inconsistentes. Dado el mecanismo de acción inmunológico de IFN $\alpha$ , es razonable evaluar el efecto de TroVax $\text{\textcircled{R}}$  en la supervivencia en pacientes que reciben este cuidado convencional común. Un estudio aún en curso no ha indicado ningún impacto en la seguridad no deseado resultante de la administración conjunta de IFN $\alpha$  y TroVax $\text{\textcircled{R}}$ .

Se encuentran en desarrollo estudios de fase II que incluyen 20 pacientes tratados con una combinación de TroVax $\text{\textcircled{R}}$  e IFN $\alpha$  (régimen por vía subcutánea tres veces a la semana) en pacientes con cáncer renal. Los datos actuales indican que la combinación se tolera bien. En comparación con el perfil de sucesos adversos histórico de IFN $\alpha$  solo, los únicos sucesos adversos adicionales comunicados son reacciones locales mínimas en el sitio de inyección de TroVax $\text{\textcircled{R}}$  y una pirexia transitoria leve. Se confirmarán las respuestas inmunitarias humorales y/o celulares a 5T4 esperadas. Los informes provisionales del estudio estarán disponibles para su revisión por parte de las autoridades reguladoras, IRB/comités éticos e investigadores como parte del proceso de aprobación de este estudio.

Los inhibidores de cinasas orales recientemente desarrollados, tales como sorafenib y sunitinib, se están haciendo cada vez más importantes en el manejo del carcinoma de células renales avanzado o metastásico. Los datos de seguridad e inmunología necesarios para apoyar la administración conjunta de sorafenib y TroVax $\text{\textcircled{R}}$  no están disponibles. A la vista de esto y de la tasa de respuesta general mayor comunicada con sunitinib, se incluirá el último en este estudio como ejemplo de un inhibidor de cinasas usado en el tratamiento del cáncer renal.

Por lo tanto, en las regiones en las que está aprobado este tratamiento, puede usarse sunitinib como cuidado convencional junto con TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo en este estudio. Se encuentra en desarrollo un estudio de fase II de pacientes tratados con una combinación de TroVax $\text{\textcircled{R}}$  y sunitinib (dosis oral de 50 mg tomada una vez al día, con una pauta de 4 de tratamiento seguida de 2 semanas de descanso) en pacientes con cáncer renal. Los datos actuales indican que la combinación se tolera bien. En comparación con los datos comunicados para sunitinib solo, los únicos sucesos adversos adicionales comunicados son reacciones locales menores en el sitio de inyección de TroVax $\text{\textcircled{R}}$  y una pirexia transitoria leve. Se confirmará la respuesta inmunitaria humoral y/o celular a 5T4 esperada. El informe provisional del estudio estará disponible para su revisión por parte de las autoridades reguladoras, IRB/comités éticos e investigadores como parte del proceso de aprobación de este estudio.

Se prevé que una vacuna para el cáncer prolongue la supervivencia induciendo una respuesta inmunitaria para un antígeno asociado a tumores. Los modelos preclínicos indican que las vacunas para el cáncer pueden retrasar el crecimiento tumoral y reducir el número de nuevas metástasis. Todavía no se sabe si una vacuna para el cáncer tiene que producir una alta tasa objetiva de respuesta tumoral (mediante RECIST) para que tenga un efecto clínicamente útil para prolongar la supervivencia. Esto se determinará únicamente en estudios de supervivencia aleatorizados en pacientes que reciban una vacunación adecuada para inducir de manera fiable una respuesta inmunitaria eficaz. Hasta la fecha, se han comunicado tanto la estabilización de la enfermedad como respuestas tumorales tardías con diversas vacunas para el cáncer.

La respuesta inmunológica máxima para la dosis de TroVax $\text{\textcircled{R}}$  no tiene lugar normalmente hasta que el paciente ha recibido un mínimo de tres inyecciones y todavía no se ha determinado si continuar con TroVax $\text{\textcircled{R}}$  a pesar de una progresión temprana conferirá un beneficio terapéutico. Por lo tanto, en este estudio, en caso de que se observase progresión tumoral pero el paciente esté tolerando TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo y su estado de rendimiento permaneciese en una puntuación de Karnofsky >60 %, se les debe solicitar continuar en el estudio recibiendo TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo hasta que hayan recibido un mínimo de ocho inyecciones de la preparación del estudio. Continuar en el estudio más allá de este punto para recibir todas las inyecciones de TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo está permitido para dichos pacientes, pero queda a la discreción del investigador o el paciente.

En los estudios de eficacia de fase III, es convencional un diseño aleatorizado, de grupo paralelo con doble enmascaramiento. Los análisis estadísticos provisionales llevados a cabo por un comité de control de los datos de seguridad independiente de acuerdo con un protocolo preestablecido se basarán en esos análisis provisionales de seguridad y eficacia. El CCDS puede recomendar continuar con el estudio, detener el estudio o detener el reclutamiento de pacientes de un grupo de tratamiento específico. El CCDS también evaluará si la frecuencia de sucesos en la rama de control se corresponde a las predicciones usadas para determinar el tamaño de la muestra del estudio y puede recomendar cambios en el número de sucesos (fallecimientos) que desencadenen el análisis final.

TroVax $\text{\textcircled{R}}$  es una vacuna contra un antígeno asociado a tumores. La evaluación de dichas vacunas tumorales para pacientes con tumores sólidos es complicada debido a una serie de factores que influyen en la definición de los objetivos, la forma de lograr los objetivos y el control continuo de los pacientes en el estudio.

Las características especiales de las vacunas tumorales que son relevantes para los objetivos se listan a continuación:

- 5 - La inmunoterapia mediada por vacunas requiere de la administración repetida y de tiempo para que el paciente desarrolle una respuesta inmunitaria al antígeno de la vacuna. En estudios previos de fase II se demostró que se necesitaban al menos tres administraciones de TroVax® para generar una respuesta inmunitaria significativa. Esto significa que los pacientes que se retiran de la medicación del estudio antes de recibir tres inyecciones de TroVax® debido a su fallecimiento o a un cáncer renal de progreso rápido, no permiten evaluar el potencial de una respuesta inmunitaria inducida por TroVax® para proporcionar un beneficio a los pacientes tratados durante 10 un periodo más largo.
- 15 - Las vacunas para el cáncer, tales como TroVax® pueden ejercer efectos beneficiosos retrasando el crecimiento tumoral y la metástasis que no se manifiestan como respuestas RECIST pero que pueden prolongar la supervivencia. Esto tiene implicaciones para el control de los pacientes porque los pacientes con una clasificación RECIST de enfermedad progresiva pueden aún beneficiarse de continuar con TroVax.
- 20 - Aún no se sabe si la reducción del tumor predice una ventaja en cuanto a la supervivencia. Esto significa que el criterio de valoración de eficacia definitivo es la supervivencia.

## Objetivos

### Objetivo de eficacia primario

25 Evaluar si la adición de TroVax® a un cuidado convencional de primera línea prolongará la supervivencia de pacientes con adenocarcinoma renal de células claras localmente avanzado o metastásico cuando se compara con placebo.

30 El análisis tendrá lugar después de que se hayan producido un número predeterminado de muertes necesario para desencadenar el análisis del criterio de valoración primario o cuando se especifique por un comité de control de los datos de seguridad basándose en los análisis de datos provisionales.

El análisis se basará en la población con intención de tratar (ITT), compuesta por todos los pacientes.

### Objetivo de seguridad primario

35 Evaluar si la adición de TroVax® al cuidado convencional de primera línea altera el perfil de eventos adversos graves y no graves, cuando se compara con el placebo, en los pacientes con adenocarcinoma renal de células claras localmente avanzado o metastásico. Esto se evaluará en la población con intención de tratar (ITT).

### Objetivos de eficacia secundarios

40 - Comparar la proporción de pacientes con supervivencia libre de progresión a las 26 semanas (+/-1 semana) en las ramas de TroVax® frente a placebo basándose en datos radiológicos. Los datos se analizarán usando la población ITT y se adjudicaron (revisión por pares enmascarada) a datos radiológicos iniciales y en la semana 26.

45 - Comparar las tasas de respuesta tumoral, el tiempo hasta la respuesta y la duración de la respuesta entre pacientes tratados con TroVax® frente a placebo. Esto se analizará en la población con intención de tratar (ITT).

50 Evaluar si la adición de un mínimo de tres dosis de TroVax® a un cuidado convencional de primera línea prolongará la supervivencia de pacientes con adenocarcinoma renal de células claras localmente avanzado o metastásico cuando se compara con placebo. Esto será un análisis exploratorio en la población con intención de tratar modificada (MITT).

55 Evaluar si TroVax® tiene un impacto en la calidad de vida medida mediante cuestionarios QLQ30 y EuroQOL cuando se compara con placebo. Esto se analizará en la población con intención de tratar (ITT).

### Criterios de valoración

#### Criterio de valoración de eficacia primario

60 La relación de tasa de suceso de supervivencia en la rama de TroVax® frente al placebo en la población con intención de tratar (ITT) basada en el log de la relación de riesgo derivada del modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se usará una estrategia de control frecuentista para evaluar la tasa de sucesos.

65 El objetivo clave de este estudio es determinar si TroVax® es capaz de prolongar la supervivencia en pacientes que reciben el cuidado convencional de primera línea.

El análisis se desencadena mediante un número predeterminado de muertes o cuando se especifique por un comité de control de los datos de seguridad basándose en los análisis de datos provisionales.

5 Criterios de valoración de seguridad primarios

El número de sucesos adversos (graves y no graves) en la población con intención de tratar en la rama de TroVax® frente a placebo.

10 Las variables de laboratorio (panel de recuento sanguíneo completo y de química) en la población con intención de tratar (ITT) en la rama de TroVax® frente a placebo.

Criterios de valoración de eficacia secundarios

15 La proporción de pacientes en las ramas de TroVax® frente a placebo en la población con intención de tratar (ITT) con supervivencia libre de progresión a las 26 semanas basándose en una comparación de los datos radiológicos iniciales y en la semana 26 (+/- 1 semana) y usando los criterios RECIST. Se adjudicarán los datos (revisión por pares enmascarada).

20 Tasas de respuesta tumoral de acuerdo con la interpretación comunicada por el investigador de los informes radiológicos basados en los criterios RECIST observados en la población con intención de tratar (ITT).

25 La relación de tasa de suceso de supervivencia en la rama de TroVax® frente al placebo en la población con intención de tratar modificada (MITT) basada en el log de la relación de riesgo derivada del modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se usará una estrategia de control frecuentista para evaluar la tasa de sucesos.

La puntuación de calidad de vida para TroVax® frente a placebo medida mediante los cuestionarios QLQ30 y EuroQOL en las poblaciones con intención de tratar (ITT) y por protocolo.

30 Criterio de valoración de inmunología

Niveles de anticuerpo anti-5T4 (se investigarán las medidas adicionales de respuesta inmunitaria, incluyendo medidas específicas de respuesta celular en algunos centros. Cada uno se someterá a un protocolo relacionado separado y el consentimiento informado para el estudio específico será condición tras la aprobación reguladora e IRB/comité de ética antes de la implementación).

35 El cáncer renal metastásico tiene un mal pronóstico. Se ha comunicado que la mediana de la supervivencia general es tan baja como 6 meses y la supervivencia a cinco años es < 5 %. Los agentes quimioterapéuticos citotóxicos sistémicos convencionales y las terapias hormonales tienen poco impacto en la supervivencia y las tasas de respuesta son normalmente < 10 %. Las grandes variaciones en la historia natural de la enfermedad y las tasas de regresión espontánea de hasta el 6 % han dado lugar a la investigación de mecanismos inmunitarios como un factor que influya en las respuestas y los resultados. Las terapias biológicas e inmunológicas han demostrado las mejores tasas de respuesta con cierto impacto en la supervivencia general. Sin embargo, el manejo del cáncer renal metastásico sigue siendo un reto terapéutico.

45 El interferón alfa (IFN $\alpha$ ) ha demostrado tasas de respuesta del 8-26 % con una mediana de supervivencia de 13 meses. La interleucina 2 (IL-2) induce respuestas en el 7-23 % de los pacientes con una mediana de supervivencia de 12 meses. El beneficio de los agentes biológicos se ha confirmado por ensayos controlados aleatorizados, que han demostrado beneficios de supervivencia modestos con IFN $\alpha$  en comparación con medroprogesterona o vinblastina. Motzer (2004) "Prognostic factors for survival of patients with stage IV renal cell carcinoma: Memorial Sloan-Kettering Cancer Center experience." Clin Cancer Res 10 (18 Pt 2): 6302S-3S, en un análisis retrospectivo de 670 pacientes en 24 ensayos de quimioterapia sistémica o terapias de citocinas, demostraron mayores tiempos de supervivencia con terapia de citocinas. En el grupo en el que hubo supervivientes a largo plazo, el 70 % fueron en ensayos que implicaron IFN $\alpha$  y/o IL-2 y el 30 % habían sido tratados con agentes hormonales o citotóxicos.

55 Los estudios iniciales con IL-2 usaron protocolos basados en los principios de la quimioterapia, usando las máximas dosis toleradas. Esto se asoció con una toxicidad renal, cardíaca, pulmonar y hemodinámica significativa, que a menudo requiere del ingreso en unidades de cuidados intensivos y limitando la utilidad a una subsección seleccionada del grupo de pacientes. Estudios posteriores de IL-2 han demostrado una eficacia similar, pero con una toxicidad significativamente menor, usando dosis menores administradas por vía subcutánea de manera ambulatoria. En un estudio, que compara IL-2 a altas y bajas dosis, hubo una tasa de respuesta mayor con el tratamiento a altas dosis pero esto no se tradujo en un beneficio de supervivencia.

65 Negrier et al. "Recombinant human interleukin-2, recombinant human interferon alfa-2a, o ambos, in metastatic renal-cell carcinoma". Groupe Francaise d'Immunotherapie. N Engl J Med 1998; 338; 1272-8 evaluó el uso de estos agentes biológicos como agente terapéutico único o terapia combinada. Demostraron tasas de respuesta del 6,5 %, 7,5 % y 18,6 % para IFN $\alpha$ , IL-2 o la combinación, respectivamente. Aunque hubo una diferencia en la supervivencia libre de progresión, esto no se tradujo en una ventaja de supervivencia. El razonamiento para la combinación de



estos agentes es que, *in vitro*, IFN $\alpha$  potencia la expresión en la membrana plasmática de antígenos de histocompatibilidad mayor para los que las células T activadas por IL-2 pueden responder.

Hay evidencias bien documentadas que sugieren que los factores de selección y pronóstico influyen de manera significativa los resultados y las respuestas de las terapias de citocinas. Motzer ha evaluado el valor pronóstico de una serie de variables en pacientes con carcinoma de células renales avanzado o metastásico. En estos pacientes, un bajo estado de rendimiento de Karnofsky, un bajo nivel de hemoglobina y un alto nivel de calcio corregido en suero indicaron un mal pronóstico. La mediana de tiempo hasta la muerte en pacientes con cero factores de riesgo fue de 22 meses. La mediana de supervivencia en pacientes con uno de estos factores de riesgo fue de 11,9 meses y los pacientes con 2-3 factores de riesgo tenían una mediana de supervivencia de 5,4 meses.

Recientemente se han desarrollado dos nuevos fármacos para el manejo del cáncer renal, sunitinib y sorafenib. Ambos funcionan inhibiendo múltiples cinasas receptoras. Las tasas de respuesta general (completa y parcial) comunicada con sunitinib son sustancialmente mayores (25,5-36,5 %) que las comunicadas con sorafenib (2 %) aunque la información del tiempo hasta la progresión tumoral y la supervivencia aún se está madurando.

Los datos de seguridad e inmunología necesarios para apoyar la administración conjunta de sorafenib y TroVax $\text{\textcircled{R}}$  no están disponibles. A la vista de esto y de la tasa de respuesta general mayor comunicada con sunitinib, se incluirá el último en este estudio como ejemplo de un inhibidor de tirosina cinasas receptoras usado en el tratamiento del cáncer renal.

El malato de sunitinib es una molécula pequeña que inhibe múltiples tirosina cinasas receptoras (RTK), algunas de las cuales están implicadas en el crecimiento tumoral, la angiogénesis patológica, y la progresión metastásica del cáncer. Se evaluó la actividad inhibitoria de sunitinib contra una diversidad de cinasas (>80 cinasas) y se identificó como un inhibidor de los receptores de factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFR $\alpha$  y PDGFR $\beta$ ), receptores de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR1, VEGFR2 y VEGFR3), receptor de factor de células madre (KIT), tirosina cinasa 3 similar a Fms (FLT3), receptor de tipo 1 de factor estimulante de colonias (CSF-1 R), y el receptor de factor neurotrófico derivado de línea celular glial (RET). La inhibición por sunitinib de la actividad de estas tirosina cinasas receptoras (RTK) se ha demostrado en ensayos bioquímicos y celulares, y la inhibición de la función se ha demostrado en ensayos de proliferación celular. El metabolito primario muestra una potencia similar a sunitinib cuando se compara en ensayos bioquímicos y celulares.

Se investigó el uso de sunitinib como agente único en el tratamiento de MRCC refractario a citocinas en dos estudios multicéntricos de una sola rama. Todos los pacientes enrolados en estos estudios experimentaron fallo terapia basada en citocinas anterior. El criterio de valoración primario de ambos estudios fue tasa de respuesta general (TRG). También se evaluó la duración de la respuesta (DR).

Se enrolaron ciento seis pacientes en el estudio 1, y se enrolaron 63 pacientes en el estudio 2. Entre los dos estudios, el 95 % de la población de pacientes agrupada tiene al menos un cierto componente de historial de células claras. Los pacientes recibieron 50 mg de sunitinib en ciclos de cuatro semanas de tratamiento y 2 semanas de descanso. Se continuó con la terapia hasta que los pacientes cumplieron criterios de abandono o tuvieron enfermedad progresiva. Hubo 27 PR en el estudio 1 evaluados por un laboratorio de radiología central para una ORR del 25,5 % (IC 95 % 17,5, 34,9). Hubo 23 PR en el estudio 2 evaluados por los investigadores para una ORR del 36,5 % (IC 95 % 24,7-49,6). La mayoría (>90 %) de las respuestas de enfermedad objetivas se observaron durante los primeros cuatro ciclos; la última respuesta comunicada se observó en el ciclo 10. Los datos de DR del estudio 1 son prematuros ya que solo 4 de los 27 pacientes (15 %) que responden al tratamiento habían experimentado progresión de la enfermedad. En el momento del corte de los datos, el estudio 1 estaba en desarrollo con 44 de 106 pacientes (41,5 %) que continuaban el tratamiento, y 11 de los 63 (17,5 %) enrolados en el estudio 2 continuaron recibiendo sunitinib en protocolos de continuación.

En marzo de 2006 no había datos disponibles para determinar si sunitinib (o sorafenib) prolonga la supervivencia en pacientes con cáncer renal.

A pesar del desarrollo reciente de los inhibidores de cinasas, el carcinoma de células renales en estadio IV es un área de alta necesidad médica no satisfecha. El uso de vacunas en este área es nuevo pero se capitaliza en la opinión aceptada de que los mecanismos inmunológicos pueden tener un papel que desempeñar en el tratamiento de esta enfermedad.

Objetivo de eficacia primario

- Evaluar si la adición de TroVax $\text{\textcircled{R}}$  a un cuidado convencional de primera línea prolongará la supervivencia de pacientes con adenocarcinoma renal de células claras localmente avanzado o metastásico cuando se compara con placebo. Esto se evaluará en la población con intención de tratar (ITT).

Objetivo de seguridad primario

- Evaluar si la adición de TroVax® al cuidado convencional de primera línea altera el perfil de eventos adversos graves y no graves, cuando se compara con el placebo, en los pacientes con adenocarcinoma renal de células claras localmente avanzado o metastásico. Esto se evaluará en la población con intención de tratar (ITT).

5    Objetivos de eficacia secundarios

- Comparar la proporción de pacientes con supervivencia libre de progresión a las 26 semanas en las ramas de TroVax® frente a placebo. Esto se evaluará en la población con intención de tratar (ITT).

- 10   • Comparar las tasas de respuesta tumoral, el tiempo hasta la respuesta y la duración de la respuesta entre pacientes tratados con TroVax® frente a placebo. Esto se analizará en la población con intención de tratar (ITT).

- 15   • Evaluar si la adición de un mínimo de tres dosis de TroVax® al cuidado convencional de primera línea prolongará la supervivencia de pacientes con adenocarcinoma de renal de células claras localmente avanzado o metastásico en comparación con placebo. Esto será un análisis exploratorio en la población con intención de tratar modificada (MITT).

- 20   • Evaluar si TroVax® tiene un impacto en la calidad de vida medida mediante cuestionarios QLQ30 y EuroQOL cuando se compara con placebo. Esto se analizará en la población con intención de tratar (ITT).

20    Criterios de valoración del estudio

      Criterio de valoración de eficacia primario

- 25   • La relación de tasa de suceso de supervivencia en la rama de TroVax® frente al placebo en la población con intención de tratar (ITT) basada en el log de la relación de riesgo derivada del modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se usará una estrategia de control frecuentista para evaluar la tasa de sucesos.

      Criterios de valoración de seguridad primarios

- 30   • El número de sucesos adversos (graves y no graves) en la población con intención de tratar en la rama de TroVax® frente a placebo.

- 35   • Las variables de laboratorio (panel de recuento sanguíneo completo y de química) en la población con intención de tratar (ITT) en la rama de TroVax® frente a placebo.

      Criterios de valoración de eficacia secundarios

- 40   • La proporción de pacientes en las ramas de TroVax® frente a placebo en la población con intención de tratar (ITT) con supervivencia libre de progresión a las 26 semanas basándose en una comparación de los datos radiológicos iniciales y en la semana 26 (+/- 1 semana) y usando los criterios RECIST. Se adjudicarán los datos (revisión por pares enmascarada).

- 45   • Tasas de respuesta tumoral de acuerdo con la interpretación comunicada por el investigador de los informes radiológicos basados en los criterios RECIST observados en la población con intención de tratar (ITT).

- 50   • La relación de tasa de suceso de supervivencia en la rama de TroVax® frente al placebo en la población con intención de tratar modificada (MITT) basada en el log de la relación de riesgo derivada del modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Se usará una estrategia de control frecuentista para evaluar la tasa de sucesos.

- 55   • La puntuación de calidad de vida para TroVax® frente a placebo medida mediante los cuestionarios QLQ30 y EuroQOL en las poblaciones con intención de tratar (ITT) y por protocolo.

55    Criterio de valoración de inmunología

- 60   • Niveles de anticuerpo anti-5T4 (se investigarán las medidas adicionales de respuesta inmunitaria, incluyendo medidas específicas de respuesta celular en algunos centros. Cada uno se someterá a un protocolo relacionado separado y el consentimiento informado para el estudio específico será condición tras la aprobación reguladora e IRB/comité de ética antes de la implementación).

      Población del estudio

- 65    Pacientes de cualquier grupo étnico con adenocarcinoma renal de células claro demostrado histológicamente a los que se les haya extirpado quirúrgicamente el tumor primario y que requieren tratamiento para la enfermedad

localmente avanzada o metastásica. La intención es incluir 700 pacientes separados a partes iguales entre las ramas de TroVax® y placebo.

Diseño del estudio

5 Este es un estudio internacional, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado por placebo, de grupo paralelo para investigar si un mínimo de tres dosis de TroVax® añadido a una terapia de cuidado convencional de primera línea prolonga la supervivencia de pacientes con adenocarcinoma renal de células clara localmente avanzado o metastásico.

10 El criterio de valoración primario es la supervivencia. El estudio está diseñado para ser pragmático, limitando las investigaciones relacionadas con el estudio adicionales al mínimo. Los escáneres y rayos X obligados por el protocolo se limitan a dos puntos temporales (inicial y semana 26) para permitir la comparación del porcentaje de pacientes con enfermedad progresiva a los 6 meses como criterio de valoración de eficacia secundario. Se seleccionaron los 6 meses basándose en una revisión de la bibliografía publicada, lo que indica que se observó normalmente enfermedad progresiva a las 26 semanas en pacientes con cáncer renal. Los criterios de valoración, tales como la respuesta tumoral mediante RECIST se consideran de importancia secundaria a la supervivencia y se determinarán mediante exámenes radiológicos ordenados a discreción del investigador basándose en el estado clínico del paciente y se basará en la interpretación del equipo cuidador del paciente (investigador y radiólogo local).

20 El enrolamiento en el estudio comenzará únicamente en cada centro una vez que se haya obtenido la aprobación ética y reguladora por parte de las autoridades competentes.

25 Después de firmar el formulario de consentimiento informado y de cumplir los criterios de enrolamiento iniciales, el investigador (su médico) asignará a los pacientes a uno de los siguientes regímenes de cuidado convencionales de primera línea basándose en qué es mejor para el paciente y de manera coherente con la práctica local:

- 30 1. baja dosis de IL-2 subcutánea
- 2. interferón alfa (excluyendo IFN-alfa pegilado)
- 3. sunitinib

35 Solo después de que se haya decidido la terapia de cuidado convencional el investigador deberá llamar por teléfono al Servicio de Reconocimiento de Voz Interactivo (IVRS). La aleatorización a TroVax® o placebo se estratificará basándose en el cuidado convencional seleccionado por el investigador, los indicadores pronósticos del estudio (puntuación de Motzer) y la geografía.

TroVax® se administra a una dosis de  $1 \times 10^9$  TCID50/ml en 1ml mediante inyección en el músculo deltoides de la parte superior del brazo a intervalos regulares de hasta 8 semanas separadas hasta un máximo de 13 dosis.

40 Un comité de control de los datos de seguridad independiente será responsable de preparar las reglas de control formales para este estudio. Este estudio de diseño en paralelo contiene una serie de evaluaciones provisionales planeadas respecto de futilidad, y para asegurar que los elementos de planeamiento en relación al desgaste y al criterio de valoración primario siguen siendo coherentes. Se usará una estrategia de control frecuentista para evaluar la relación de tasa de sucesos para asegurar que las suposiciones son precisas y que el tamaño de la muestra sigue siendo adecuado para evaluar la superioridad. El CCDS puede recomendar cambios para la diana del enrolamiento si las suposiciones antes del ensayo demuestran ser imprecisas. Estas revisiones del CCDS se llevarán a cabo de manera confidencial. El análisis de los datos no se compartirán con el patrocinador, los investigadores o cualquier otro participante del estudio.

50 Diseño del estudio

Tipo de estudio

55 Este es un estudio internacional, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado por placebo de grupos paralelos diseñado para estudiar si, cuando se añade al cuidado convencional de primera línea TroVax® prolonga la supervivencia en pacientes con carcinoma renal localmente avanzado o metastásico.

60 El criterio de valoración primario es la supervivencia. El estudio está diseñado para ser pragmático, limitando las investigaciones relacionadas con el estudio adicionales al mínimo. Los escáneres y rayos X obligados por el protocolo se limitan a dos puntos temporales (inicial y semana 26) para permitir la comparación del porcentaje de pacientes con enfermedad progresiva a los 6 meses como criterio de valoración de eficacia secundario. Se seleccionaron los 6 meses basándose en una revisión de la bibliografía publicada, lo que indica que se observó normalmente enfermedad progresiva a las 26 semanas en pacientes con cáncer renal. Los criterios de valoración, tales como la respuesta tumoral mediante RECIST se consideran de importancia secundaria a la supervivencia y se determinarán mediante exámenes radiológicos ordenados a discreción del investigador basándose en el estado clínico del paciente y se basará en la interpretación del equipo cuidador del paciente (investigador y radiólogo local).

El enrolamiento en el estudio de 700 pacientes comenzará únicamente una vez que se haya obtenido la aprobación ética y reguladora por parte de las autoridades competentes.

5 Después de firmar el formulario de consentimiento informado y de cumplir los criterios de enrolamiento iniciales, el investigador (su médico) asignará a los pacientes a uno de los siguientes regímenes de cuidado convencionales basándose en qué es mejor para el paciente y de manera coherente con la práctica local:

1. baja dosis de IL-2 subcutánea

10 2. interferón- $\alpha$  (excluyendo IFN $\alpha$  pegilado)

3. sunitinib

15 Solo después de que se haya decidido la terapia de cuidado convencional el investigador deberá llamar por teléfono al Servicio de Aleatorización de Voz Interactivo (IVRS). La aleatorización a TroVax® o placebo se estratificará basándose en el cuidado convencional seleccionado por el investigador, el sitio de estudio y los indicadores pronósticos.

20 Un comité de control de los datos de seguridad independiente revisará periódicamente los datos que vayan surgiendo. Estas revisiones se llevarán a cabo de manera confidencial. El análisis de los datos no se compartirán con el patrocinador, los investigadores o cualquier otro participante del estudio. Se usará una estrategia de control frecuentista para evaluar la relación de tasa de sucesos para asegurar que las suposiciones son precisas y que el tamaño de la muestra sigue siendo adecuado para evaluar la superioridad. El CCDS puede recomendar cambios para la diana del enrolamiento si las suposiciones antes del ensayo demuestran ser imprecisas.

25 Razonamiento para el diseño del estudio

30 En los estudios de eficacia de fase III, es convencional un diseño aleatorizado, de grupo paralelo con doble enmascaramiento. Los análisis estadísticos provisionales llevados a cabo por un comité de control de los datos de seguridad asegurará que el ensayo puede cerrarse si se demuestra que es fútil o redimensionarse si resulta que las suposiciones efectuadas acerca del criterio de valoración primario en el grupo de control son imprecisas.

Sitios del estudio, duración y tasas de reclutamiento

35 Este es un ensayo internacional con reclutamiento en aproximadamente 100 sitios. Se estima que las tasas de reclutamiento sean de aproximadamente 0,5 a 4 pacientes por sitio cada mes. Ya que este es un estudio de supervivencia se espera que los pacientes permanezcan en el estudio durante una mediana de tiempo de 12 meses.

Justificación del régimen de dosificación propuesto

40 En el estudio de fase I de TroVax® se estudiaron cuatro niveles de dosificación ( $1 \times 10^8$  TCID50/ml,  $2 \times 10^8$  TCID50/ml,  $5 \times 10^8$  TCID50/ml, y  $1 \times 10^9$  TCID50/ml) y se compararon dos rutas de administración diferentes, intramuscular e intradérmica. No hubo una diferencia clínica o estadísticamente significativa en el pico de respuesta inmunitaria, aunque la dosis máxima produjo una respuesta de anticuerpos ligeramente más temprana. No se observó diferencia entre las rutas de administración en cuanto a la respuesta de anticuerpos. Todas las dosis y rutas se toleraron bien solo con reacciones locales en el sitio de inyección que tuvieron una frecuencia similar. A la vista de una tendencia hacia una respuesta de anticuerpos más temprana, se seleccionó la dosis de  $1 \times 10^9$  TCID50/ml.

50 En estudios de fase II posteriores que implicaron a  $> 70$  pacientes, se usó un nivel de dosificación de  $1 \times 10^9$  TCID50/ml y se confirmaron la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad.

55 En este estudio, TroVax®/placebo se administra en las semanas 1, 3, 6, 9, 13, 17, 21, 25, 33, 41, 49, 57 y 65. Esta frecuencia está influenciada por la experiencia obtenida en los estudios de fase II en pacientes con cáncer renal o colorrectal, donde se administró TroVax® conjuntamente en combinación con quimioterapia, IL-2 o IFN $\alpha$ .

Población del estudio

Reclutamiento de pacientes

60 Se enrolarán en el estudio 700 pacientes en total con carcinoma renal de células claras. Los pacientes seleccionables se habrán sometido a extirpación quirúrgica del tumor primario.

Los pacientes recibirán uno de los siguientes cuidados convencionales:

65 baja dosis de IL-2 subcutánea

interferón alfa (excluyendo IFN $\alpha$  pegilado)

sunitinib

5 La selección del cuidado convencional de primera línea para cada paciente se efectuará por el médico del paciente basándose en criterios clínicos normales, cuidado convencional local, y estado regulatorio y de reembolso local o disponibilidad económica. Una vez que se seleccione el tratamiento, se aleatorizarán los pacientes a TroVax® o placebo.

10 Los pacientes se reclutarán internacionalmente. Los pacientes de todos los grupos étnicos son seleccionables para el estudio.

Criterios de admisión

15 Se incluirán en este estudio los pacientes que cumplan los siguientes criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión.

Criterios de inclusión

20 Consentimiento informado firmado. El paciente debe estar capacitado para dar consentimiento informado por escrito y cumplir con los requisitos del protocolo.

Carcinoma renal de células claras localmente avanzado o metastásico, comprobado histológicamente.

Tumor primario extirpado quirúrgicamente (puede quedar cierta cantidad de tumor primario avanzado residual).

25 Al menos cuatro semanas después de la cirugía o radioterapia (definido desde el tiempo de aleatorización).

Primera línea. Sin terapia anterior para el cáncer renal excepto cirugía o radioterapia.

Enfermedad medible.

30 De 18 años de edad o más.

35 Esperanza de vida del paciente mínima de 12 semanas (es decir, en la opinión del investigador hay > 90 % de posibilidades de que el paciente sobreviva > 12 semanas si se trata con el cuidado convencional seleccionado).

40 Sin enfermedad autoinmunitaria clínicamente evidente (incluyendo sin diagnóstico previo confirmado o tratamiento para enfermedades autoinmunitarias, incluyendo lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, diabetes mellitus insulino dependiente o manifestaciones sistémicas (no articulares) de enfermedad reumatoide).

Recuento total de glóbulos blancos  $\geq 3 \times 10^9/l$  y recuento de linfocitos  $\geq 1 \times 10^9/l$ .

Creatinina en suero  $\leq 1,5$  veces el límite superior del normal.

45 Bilirrubina  $\leq 2$  el límite superior del normal y SGPT de  $\leq 4$  el límite superior del normal.

50 Las mujeres deben ser postmenopáusicas, o quirúrgicamente estériles o, en caso de tener potencial de concepción, tienen que haber empleado formas de contracepción fiables (contracepción oral + un método de barrera) durante al menos tres meses antes de la primera dosis de TroVax® y tienen que continuar mientras que se estén tratando con TroVax®. Los hombres tienen que poner en práctica formas fiables de contracepción (barrera o vasectomía) mientras que se estén tratando con TroVax®.

Sin cambios agudos en ECG de 12 polos.

55 Fracción de eyección documentada no menor del 45 % o sin sospechas clínicas de que la fracción de eyección cardíaca sea menor del 45 % (en caso de que exista una sospecha clínica, debe medirse la fracción de eyección según los procedimientos locales).

60 Estado de rendimiento de Karnofsky de  $\geq 80$  %.

Criterios de exclusión

Metástasis cerebrales. (Conocidas de investigaciones anteriores o detectables clínicamente).

65 Exposición previa a TroVax®.

Infecciones graves dentro de los 28 previos a la inclusión en el ensayo.

Positivo en las pruebas para VIH, hepatitis B o C.

Enfermedad potencialmente letal no relacionada con el cáncer.

5 Historial de respuesta alérgica a vacunaciones previas con vaccinia.

Alergia conocida a proteínas del huevo.

Hipersensibilidad conocida a la neomicina.

10 Participación en cualquier otro ensayo clínico de un fármaco autorizado o no autorizado dentro de los 30 días anteriores o durante el transcurso de este ensayo.

15 Neoplasias malignas previas en los últimos 10 años distintas de carcinoma escamoso de la piel tratado con éxito o carcinoma *in situ* de cuello de útero tratado con biopsia de cono.

Historial previo de un trastorno psiquiátrico importante que requiriese de hospitalización o cualquier trastorno psiquiátrico actual que pueda impedir la capacidad del paciente para proporcionar el consentimiento informado o para cumplir con el protocolo.

20 Uso de corticoesteroides orales a menos que estén prescritos como terapia de reemplazo en caso de insuficiencia adrenal.

Uso actual de agentes listados en la información de prescripción aprobada localmente como causantes de inmunosupresión.

25 Historial previo de trasplante de órganos.

Embarazo o lactancia.

30 Criterios de retirada

De acuerdo con las regulaciones aplicables, un paciente tiene derecho a retirarse del estudio en cualquier momento y por cualquier motivo sin perjuicio de su futuro cuidado médico por el médico o en la institución.

35 Si se retira a un paciente del tratamiento con TroVax®/placebo debido a un suceso adverso (AE), se efectuará un seguimiento del suceso hasta que se haya resuelto o se haya estabilizado. Debido a que este es un estudio de supervivencia, los pacientes tienen que estar en seguimiento hasta su fallecimiento para documentar el tratamiento posterior y estado de supervivencia.

40 Además de los AE, otro de los motivos para la retirada de pacientes del estudio podría ser la retirada del consentimiento por el paciente. En caso de que esto sucediese, ya que este es un estudio de supervivencia, el médico del paciente tiene que solicitar el consentimiento del paciente para un seguimiento de supervivencia.

El abandono del estudio, y el motivo del abandono, deben documentarse en el CRF.

45 Debido a que el criterio de valoración primario de este estudio es la supervivencia y a que todos los pacientes aleatorizados se incluirán en el análisis del criterio de valoración primario o secundario, los pacientes que deseen abandonar todos los demás procedimientos relacionados con el estudio por cualquier motivo deben ser consultados acerca de si consentirían un seguimiento limitado a documentar su tratamiento posterior y estado de supervivencia.

50 En caso de que acepten, debe usarse un nuevo formulario de consentimiento informado para dicho seguimiento del plan y métodos de tratamiento. La pauta del estudio se expone a continuación:

	iniciación	sem 1	sem 2	sem 3	sem 4	sem 5	sem 6	sem 7	sem 8	sem 9	sem 10	sem 11	sem 12	sem 13	sem 14	sem 15	sem 16	sem 17	sem 18
TroVax®/Placebo 1/sem. día	X		X		X		X			X									X
Los pacientes reciben únicamente uno de los siguientes tratamientos																			
IL-2 tratamiento días 1-5 cada sem.		X		X		X		X		X		X		X		X		X	
Continuar con 6 semanas de IL-2 subcutánea seguido de 2 semanas sin IL-2 cada 8 semanas hasta la progresión tumoral o semana 46 (la que suceda antes)																			
○																			
IFN-α																			
IFN-α subcutáneo día 1, 3 y 5 de cada semana hasta la progresión tumoral (hágase referencia a la información de prescripción aprobada nacionalmente o a las guías institucionales del uso de IFN-α para el cáncer renal)																			
○																			
sunitinib		X		X		X		X		X		X		X		X		X	
Continuar con 4 semanas de sunitinib después 2 semanas sin sunitinib cada 6 semanas hasta la progresión tumoral. (véase la información de prescripción de sunitinib aprobada nacionalmente).																			
Los pacientes solo reciben uno de estos tratamientos																			





ES 2 565 439 T3

aplicable)																			
QOL	X						X							X					X
Terapia contaminante	Registrar en cada visita que el paciente recibe TroVax®/placebo																		
AEs	Durante el estudio mientras que el paciente recibe TroVax®/placebo y 30 días después																		
Rx de cáncer renal posterior	Registrar otro tratamiento para el cáncer renal una vez que el paciente ya no recibe TroVax®/placebo																		
Estado de supervivencia/fecha de fallecimiento	Registrar en cada visita que el paciente recibe TroVax®/placebo y cada 12 semanas posteriormente. Si el paciente no vuelve a la clínica búsquese el estado de supervivencia y la fecha del fallecimiento según se permita por el consentimiento del paciente																		

Si está indicado clínicamente \* incluyendo LDH inicial

Pauta de todas las inyecciones de TroVax® +/- 3 días. Las pautas de todas las observaciones de laboratorio y clínicas tienen que permanecer igual en relación a TroVax®. El escáner de la semana 26 puede variar en +/- 7 días.

5

	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s	s
	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e
	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.	m.
	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	9	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5	6	7	
TroVax®/Placebo día 1			X				X								X					
- <sup>a</sup>	Los pacientes reciben únicamente uno de los siguientes tratamientos																			

IL-2 tratamiento días 1-5 cada sem.	Continuar con 6 semanas de IL-2 subcutánea seguido de 2 semanas sin IL-2 cada 8 semanas hasta la progresión tumoral o semana 46 (la que suceda antes)
O	
IFN-α	IFN-α subcutáneo día 1, 3 y 5 de cada semana hasta la progresión tumoral (hágase referencia a la información de prescripción aprobada nacionalmente o a las guías institucionales del uso de IFN-α para el cáncer renal)
O	
sunitinib	Continuar con 4 semanas de sunitinib después 2 semanas sin sunitinib cada 6 semanas hasta la progresión tumoral. (véase la información de prescripción de sunitinib aprobada nacionalmente).
Los pacientes reciben todos los procedimientos siguientes	
Examen físico	X
Peso, PA, pulso, temperatura	X
CBC/Dif/Pilaq.	X
Panel químico	X
TC o IRM de pecho, Abd, pelvis	X
Karnofsky	X

ES 2 565 439 T3

QOL			X			X			X			X				
Prueba de embarazo (sí aplicable)	Antes de TroVax <sup>®</sup> /placebo si hay posibilidad de embarazo															
Terapia contaminante	Registrar en cada visita que el paciente recibe TroVax <sup>®</sup> /placebo															
AEs	Durante el estudio mientras que el paciente recibe TroVax <sup>®</sup> /placebo y 30 días después															
Rx de cáncer renal posterior	Registrar otro tratamiento para el cáncer renal una vez que el paciente ya no recibe TroVax <sup>®</sup> /placebo															
Estado de supervivencia/fecha de fallecimiento	Registrar en cada visita que el paciente recibe TroVax <sup>®</sup> /placebo y cada 12 semanas posteriormente. Si el paciente no vuelve a la clínica búsquese el estado de supervivencia y la fecha del fallecimiento según se permita por el consentimiento del paciente															

Pauta de todas las inyecciones de TroVax<sup>®</sup> +/- 3 días. Las pautas de todas las observaciones de laboratorio y clínicas tienen que permanecer igual en relación a TroVax<sup>®</sup>. El escáner de la semana 26 puede variar en +/- 7 días.

	s e m. 3 8	s e m. 3 4 0	s e m. 4 4 1	s e m. 4 4 2	s e m. 4 4 3	s e m. 4 4 4	s e m. 4 4 5	s e m. 4 4 6	s e m. 4 4 7	s e m. 4 4 8	s e m. 4 4 9	s e m. 5 0 0	s e m. 5 1 1	s e m. 5 2 2	s e m. 5 3 3	s e m. 5 4 4	s e m. 5 5 5	s e m. 5 6 6	
TroVax®/Placebo día 1			X								X								
Los pacientes reciben únicamente uno de los siguientes tratamientos																			
IL-2 tratamiento días 1-5 cada sem.	Continuar con 6 semanas de IL-2 subcutáneas seguido de dos semanas sin IL-2 cada 8 semanas hasta la progresión tumoral o semana 46 (la que suceda primero).											No más IL-2 adicional							
O																			
IFN-α	IFN-α subcutáneo día 1, 3 y 5 de cada semana hasta la progresión tumoral (hágase referencia a la información de prescripción aprobada nacionalmente o a las guías institucionales del uso de IFN-α para el cáncer renal)																		
O																			
sunitinib	Continuar con 4 semanas de sunitinib después 2 semanas sin sunitinib cada 6 semanas hasta la progresión tumoral. (véase la información de prescripción de sunitinib aprobada nacionalmente).																		
Los pacientes solo reciben uno de estos tratamientos																			
Los pacientes reciben todos los siguientes procedimientos																			
Examen físico			X									X							



	s e m. 5 7	s e m. 5 8	s e m. 5 9	s e m. 6 0	s e m. 6 1	s e m. 6 2	s e m. 6 3	s e m. 6 4	s e m. 6 5	s e m. 6 6	Semanas posteriores
TroVax®/Placebo día 1	X								X		
Los pacientes reciben únicamente uno de los siguientes tratamientos											
IL-2 tratamiento días 1-5 cada sem.	No más IL-2 adicional										
○ IFN-α	IFN-α subcutáneo día 1, 3 y 5 de cada semana hasta la progresión tumoral (hágase referencia a la información de prescripción aprobada nacionalmente o a las guías institucionales del uso de IFN-α para el cáncer renal)										
○ sunitinib	Continuar con 4 semanas de sunitinib después 2 semanas sin sunitinib cada 6 semanas hasta la progresión tumoral. (véase la información de prescripción de sunitinib aprobada nacionalmente).										
Los pacientes solo reciben uno de estos tratamientos											
Examen físico	X								X		Continuar con el seguimiento de supervivencia
Los pacientes reciben todos los siguientes procedimientos											



Procedimientos de asignación de tratamientos y aleatorización

5 El tratamiento (TroVax® o placebo) se asignará basándose en aleatorización estratificada. El objetivo primario de la estratificación será asegurar que la distribución del tratamiento de cuidado convencional de primera línea esté equilibrado entre las dos ramas del estudio. Los objetivos secundarios de la estratificación serán establecer un equilibrio entre las ramas de tratamiento respecto de un índice pronóstico (puntuación de Motzer) y la geografía.

10 Motzer et al demostraron en una serie de 670 pacientes con carcinoma renal avanzado que la supervivencia se correlacionó con cinco factores pronósticos: Estado de rendimiento de Karnofsky de (< 80 %), alto nivel de lactato deshidrogenasa (LDH) (>1,5 veces el límite superior de lo normal), bajo nivel de hemoglobina (menor que el límite inferior normal para el género), alto nivel de calcio corregido en suero (>10 mg/dl), y ausencia de nefrectomía. Cuanto mayor sea el número de factores positivos peor será el pronóstico. Los criterios de inclusión para este estudio requieren de un estado de rendimiento de Karnofsky  $\geq$  80 % y extirpación previa del tumor primario. Durante el procedimiento de aleatorización, se solicitarán el nivel de hemoglobina (más género), LDH y calcio en suero del paciente para asegurar que las ramas de tratamiento están equilibradas respecto de estas variables pronósticas.

20 Se usará un sistema de respuesta a la voz interactivo basado en teléfono. Los pacientes se registrarán en el estudio usando un sistema de respuesta a voz interactivo (IVRS). La asignación al tratamiento (TroVax® o placebo) y el registro del paciente solo tendrán lugar después de que el investigador haya registrado la terapia de cuidado convencional a los pacientes y de confirmar que el paciente cumple con todos los criterios de inclusión/exclusión. Todos los pacientes aleatorizados se incluirán en los análisis de intención de tratar (ITT).

25 Las instrucciones acerca del acceso y uso del servicio IVRS, incluyendo el número de acceso telefónico local, el script de las preguntas de aleatorización en idioma local y los números de soporte se proporcionarán de manera separada del protocolo.

Administración de la medicación del estudio

30 Los pacientes incluidos en este ensayo deben recibir TroVax® o placebo más una de las siguientes opciones de tratamiento de cuidado convencional de primera línea: IL-2 (baja dosis), interferón  $\alpha$  o sunitinib. No debe administrarse cualquier otra forma de inmunoterapia, quimioterapia o radioterapia entre la entrada en el estudio y la progresión tumoral. Puede usarse otra medicación concurrente tal como se detalla en "otros tratamientos concurrentes" a continuación. Después de la progresión tumoral los pacientes pueden recibir cualquiera de quimioterapia, radioterapia, terapia de citocinas o cualquier otra terapia indicada para el cuidado o paliamiento adicional del tumor. Todas estas terapias deben registrarse en el informe del caso del paciente en tanto que se siga evaluando la supervivencia del paciente.

Administración de TroVax®/Placebo

40 Antes de administrar la vacuna, se obtendrá el historial de vacunación prospectivo del paciente y se determinará si el individuo ha tenido cualquier reacción alérgica a una vacuna, incluyendo TroVax®.

45 Se administrarán todas las inmunizaciones de TroVax®/placebo por inyección intramuscular en el músculo deltoides de la parte superior del brazo.

50 Todos los pacientes recibirán el tratamiento en una sala separada alejado del contacto con otros pacientes. La formulación se llevará a esta sala separada. TroVax®/placebo se presentan como material liofilizado. Se proporcionarán instrucciones detalladas al farmacéutico para su reconstitución. TroVax® debe resuspenderse añadiendo 1,2 ml de agua para inyección. La solución resultante parecerá opalescente. Entonces se extrae un ml de volumen de esta solución en una jeringuilla y se inyecta en el paciente. La inyección se preparará en la sala por la persona que administre la dosis, o en la farmacia y se suministrará a la sala en una jeringuilla, dependiendo de las circunstancias locales. Antes de la inyección tiene que confirmarse el número de comprobación de la dosis, usando IVRS, por el farmacéutico u otro individuo responsable.

55 En ningún caso se dejará el material reconstituido durante más de dos horas a temperatura ambiente. En caso de que eso suceda, debe desecharse el material y notificarlo al IVRS.

60 Se desinfectará la piel con etanol y se administrará la inyección por vía intramuscular. Después de esto, se cubrirá el sitio de inyección con un vendaje oclusivo. Este vendaje se retirará después de que se de de alta al paciente del hospital.

65 Nótese: La respuesta inmunológica máxima a TroVax® no tiene lugar normalmente hasta que el paciente ha recibido al menos tres inyecciones. Se ha comunicado estabilización de la enfermedad o respuestas tumorales tardías con diversas vacunas para el cáncer. No se ha determinado si continuar con TroVax® a pesar de una progresión temprana conferirá un beneficio terapéutico. Si se observa progresión tumoral pero el paciente está tolerando TroVax®/placebo y su estado de rendimiento sigue en una puntuación de Karnofsky  $>60$  % se le debe solicitar



seguir recibiendo TroVax®/placebo hasta que hayan recibido un mínimo de ocho inyecciones. Se permite continuar más allá de este punto a discreción del investigador y del paciente.

5 Los pacientes deben permanecer en observación médica durante una hora después de la inyección de TroVax®/placebo.

Las provisiones de tratamiento adecuadas, incluyendo inyecciones de epinefrina (1:1000), deben estar disponibles para su uso inmediato en caso de que tenga lugar una reacción anafiláctica.

10 Todo el personal sanitario que maneje TroVax® o materiales contaminados con éste deben llevar un delantal, guantes, máscara, y gafas protectoras. Todos los materiales potencialmente contaminados con TroVax®, por ejemplo, jeringuillas, torundas, vendajes, deben destruirse mediante incineración, o un equivalente local, de acuerdo con la política del hospital acerca de los materiales modificados genéticamente. Los certificados de destrucción, o sus equivalentes, deben completarse para los viales usados y no usados, y las copias deben mantenerse en el  
15 archivo del ensayo.

#### Administración de IL-2

20 La IL-2 (de Chiron o de un fabricante aprobado localmente) se administrará por inyección subcutánea. El material liofilizado (22 millones de unidades) deben reconstituirse en 1,2 ml de diluyente, tras lo cual tendrá una vida útil de 48 horas si se mantiene refrigerado a 2-8 °C. La pauta de dosificación será una dosis inicial de 250.000 U/kg/dosis (con un límite superior de 22 millones de unidades/dosis) durante 5 días de los 7 de la semana 1 de cada ciclo seguido de 125.000 U/kg/dosis (con un límite superior de 11 millones de unidades/dosis) durante 5 días en cada una de las semanas 2-6 de cada ciclo. Habrá un periodo de recuperación de dos semanas antes de que comience el  
25 siguiente ciclo de IL-2. Una vez que se reconstituye puede usarse el vial para dos inyecciones, cuando estas se administran en días consecutivos. La dosis usada debe registrarse en el formulario de informe del caso.

#### Administración de IFN $\alpha$

30 Se administrará IFN $\alpha$  una vez al día como inyección subcutánea tres veces a la semana en los días 1, 3 y 5 de cada semana. (Nota: No se incluye IFN $\alpha$  pegilado como opción de cuidado convencional en este protocolo. Actualmente no hay datos de seguridad o de actividad inmunológica acerca del uso concomitante de TroVax® e IFN $\alpha$  pegilado).

35 A menos que se observe progresión tumoral, se deberá tratar al paciente durante un mínimo de 12 semanas. El tratamiento puede continuar hasta la progresión tumoral a discreción del investigador.

40 Las dosis de IFN $\alpha$  usadas por los diferentes centros de tratamiento dependen del prospecto aprobado por las autoridades reguladoras, y del fabricante. La dosis usada en este estudio debe reflejar el cuidado convencional local pero debe encontrarse entre 9 millones de unidades internacionales (UI) y 18 millones de UI tres veces por semana. Deben usarse dosis menores durante la primera semana, y dependiendo de la dosis diana final, la segunda semana. La pauta real usada se registrará en el formulario de informe del caso.

45 Para información adicional acerca de IFN $\alpha$  hágase referencia al prospecto aprobado nacionalmente o al resumen de las características del producto producido por el titular local de la licencia.

Para la evaluación de los pacientes respecto del beneficio clínico a causa del tratamiento véase la pauta del estudio. Los pacientes que se benefician del tratamiento son seleccionables para tratamiento posterior. Posteriormente, se continuará la terapia hasta que se cumplan los criterios de enfermedad progresiva o hasta 12 meses adicionales.

#### 50 Administración de sunitinib

Las cápsulas de sunitinib se proporcionan como cápsulas duras impresas que contienen malato de sunitinib equivalente a 12,5 mg, 25 mg o 50 mg de sunitinib y debe manipularse de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La dosis recomendada de sunitinib para el cáncer de células renales avanzado es una dosis oral de  
55 50 mg una vez al día, en una pauta de 4 semanas de tratamiento seguida de 2 de descanso. Sunitinib puede tomarse con o sin alimentos. La pauta usada debe registrarse en el formulario de informe del caso.

El tratamiento debe continuar hasta la progresión tumoral o hasta que se produzca toxicidad no aceptable.

#### 60 Administración de otros tratamientos concurrentes

Todas las demás medicaciones concurrentes se registrarán en detalle en el CRF durante el tratamiento. Esta información puede usarse para asistir en la interpretación de cualquier informe de sucesos adversos. Si un paciente deja TroVax®/placebo y se usan otros tratamientos para el cáncer renal, se usará una lista de comprobación simple  
65 en el CRF para registrar el tipo de tratamiento; esta información puede usarse para ayudar en la interpretación de los datos de supervivencia y de control del paciente después de la terapia de cuidado convencional seleccionada.

La medicación prevista para aliviar los síntomas se prescribirá a discreción del investigador y se registrará en el formulario de informe del caso (CRF). Las medicaciones prescritas por el médico de cabecera del paciente también se anotarán en el CRF. Los pacientes también deben llevar un registro de cualquier medicamento sin receta consumido y estos deben anotarse en el CRF.

5 Las terapias consideradas necesarias para el bienestar del sujeto deben administrarse a discreción del investigador. Estas se registrarán en el formulario de informe del paciente.

10 Los cuidados de soporte para mitigar los efectos adversos o complicaciones conocidas del cuidado convencional concomitante pueden administrarse a discreción del médico, incluyendo antipiréticos, antiinflamatorios no esteroideos, antieméticos, etc. No deben usarse esteroides intramusculares o intravenosos excepto cuando sean necesarios para tratar emergencias vitales. Los cuidados de soporte se comunicarán en el formulario de informe del caso.

15 Manejo de la progresión de la enfermedad

En caso de que se observe progresión de la enfermedad durante el estudio, y se necesiten otros medicamentos anticáncer, deben abandonarse la IL-2, IFN $\alpha$  o sunitinib. La selección de la terapia antitumoral posterior no está especificada por este protocolo y queda a la discreción del paciente y de su médico.

20 En caso de progresión tumoral el paciente debe permanecer en el estudio (a menos que solicite abandonarlo). Esto se debe a dos motivos:

25 Este es un estudio de supervivencia y debe efectuarse un seguimiento del estado de supervivencia de los pacientes.

30 La respuesta inmunológica máxima a TroVax $\text{\textcircled{R}}$  no tiene lugar normalmente hasta que el paciente ha recibido al menos tres inyecciones. Se ha comunicado estabilización de la enfermedad o respuestas tumorales tardías con diversas vacunas para el cáncer. No se ha determinado si continuar con TroVax $\text{\textcircled{R}}$  a pesar de una progresión temprana conferirá un beneficio terapéutico. Por lo tanto, se observa progresión tumoral pero el paciente está tolerando TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo y su estado de rendimiento sigue en una puntuación de Karnofsky  $>60\%$  se le debe solicitar seguir recibiendo TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo hasta que hayan recibido un mínimo de ocho inyecciones de la preparación del estudio. Continuar en el estudio más allá de este punto para recibir todas las inyecciones de TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo está permitido, a la discreción del investigador o el paciente.

35 Procedimientos específicos

Procedimientos de exploración y selección

40 Debe mantenerse un registro de exploración para todos los pacientes explorados para su inclusión en el estudio, incluyendo, si fuese aplicable, el motivo para no entrar en el estudio.

45 Los criterios de inclusión/exclusión se listan en la sección titulada Criterios de admisión (anterior) y la pauta del estudio.

Obtención de imágenes/diagnóstico

50 A las 2 semanas de exploración, y antes de recibir el fármaco del estudio, se documentarán las metástasis usando TC de tórax, abdomen y pelvis de acuerdo con guías definidas contenidas en el manual de operaciones del sitio. Esto permitirá una posible revisión independiente en un momento posterior. También se obtendrá una IRM o TC del cerebro en caso de que haya sospecha clínica de metástasis cerebrales.

Diagnóstico clínico/de laboratorio

55 Para la exploración, se requieren estos en los 14 días antes de la primera inyección de TroVax $\text{\textcircled{R}}$ /placebo:

- Historial y examen físico, incluyendo altura, peso, y signos vitales.

60 - Estado de rendimiento de Karnofsky.

- Se evaluará la calidad de vida (QLG130, EuroQOL).

- ECG de 12 polos (para todos los pacientes) y ecocardiograma solo en caso de estar indicado clínicamente.

65 - Pruebas de patología clínica (recuento sanguíneo completo con recuentos diferenciales de glóbulos blancos y plaquetas, urea y electrolitos, pruebas de función hepática (bilirrubina total, AST, ALT, fosfatasa alcalina), proteínas séricas, calcio, fosfato, ácido úrico y creatinina). Además, la LDH inicial debe medirse.

- Prueba de embarazo (para mujeres con potencial reproductivo - incluyendo aquellas cuyo último periodo menstrual haya sido en los últimos dos años). En la exploración está será una prueba en suero, pero en todos los demás instantes será una prueba de orina.

5 - En caso de estar disponible, se obtendrá tejido tumoral de biopsias anteriores. (Para su procesamiento y ensayo por lotes en una fecha posterior respecto de la presencia de antígenos tumorales).

Todas las pruebas de laboratorio se llevarán a cabo por un laboratorio central con las cualificaciones adecuadas.

10 Muestras para inmunología

Se necesitarán muestras de sangre de 10 ml. Estas muestras se pondrán en tubos de recogida de sangre heparinizados y se procesarán inmediatamente por un laboratorio central cualificado adecuado. Las muestras se analizarán por Oxford BioMedica, o un laboratorio designado, de acuerdo con sus POS.

15 Materiales de estudio

TroVax® /Placebo

20 TroVax® /Placebo se suministrará por Oxford BioMedica Ltd.

Embalaje, etiquetado e información adicional. El embalaje y el etiquetado serán de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) para ensayos clínicos. Cada vial tendrá una etiqueta conforme a las regulaciones nacionales para un producto medicinal en investigación. El etiquetado del cartón exterior también portará una etiqueta conforme a las regulaciones nacionales para un producto medicinal en investigación.

Los investigadores y farmacéuticos deben ser conscientes de que los suministros de ensayos clínicos deben usarse únicamente para el ensayo clínico para el que están indicados. No deben usarse para cualquier otro ensayo, ya sea de TroVax® o no, o para cualquier otro uso clínico.

30 Puede encontrarse información adicional en la versión adicional del Folleto del Investigador.

Almacenamiento y desecho de las medicaciones del estudio

35 TroVax®/placebo deben almacenarse en un refrigerador con llave a entre 2 °C a 8 °C (36 °F a 46 °F) en la farmacia del hospital, o en otra ubicación segura comparable. Debe almacenarse de tal forma que no pueda mezclarse o confundirse con otras medicaciones, ya sean suministros para el ensayo clínico o medicinas para su uso clínico rutinario.

40 La dispensación se documentará cumplimentando un registro con la fecha de dispensación y los detalles del paciente. Los viales usados deben almacenarse en bolsas o contenedores de riesgos biológicos etiquetados antes de la reconciliación por el monitor del ensayo.

45 En cada visita, el monitor del ensayo clínico revisará el registro de dispensación de fármaco y lo reconciliará con los viales no usados (en caso de que estén disponibles debido a procedimientos locales). Todos los viales no usados deben destruirse *in situ* de acuerdo con los procedimientos para la destrucción de desechos genéticamente modificados y se documentará la destrucción de manera adecuada. Se registrará una copia del certificado de destrucción en el Archivo de Ensayo del sitio.

50 Precauciones/sobredosificación

TroVax® está contraindicado en pacientes que hayan tenido previamente reacciones de hipersensibilidad a TroVax®, vacunaciones con vaccinia, proteínas del huevo o neomicina. Los pacientes deben permanecer en observación médica durante una hora después de la inyección de TroVax. Las provisiones de tratamiento adecuadas, incluyendo inyecciones de epinefrina (1:1000), deben estar disponibles para su uso inmediato en caso de que tenga lugar una reacción anafiláctica. TroVax® también está contraindicado en pacientes que están embarazadas o lactando.

60 Aunque es altamente improbable, es posible que pueda producirse una reacción autoinmunitaria contra la pituitaria o intestinos ya que estos órganos mostraron una tinción de bajo nivel esporádica para 5T4 en experimentos *in vitro*. Los estudios en 100 pacientes que recibieron aproximadamente 450 dosis de TroVax® no han indicado signos clínicos o de laboratorio o síntomas que sugieran una función pituitaria comprometida. Sin embargo, los investigadores deben estar prevenidos del hallazgo preclínico.

65 Todo el personal sanitario que maneje TroVax® o materiales contaminados con éste deben llevar un delantal, guantes, una máscara y gafas protectoras. El personal sanitario gestante no debe manejar ni TroVax® ni materiales contaminados con TroVax®.

No se han comunicado casos de sobredosificación de TroVax®. No se conoce que se requiera intervención médica activa en caso de sobredosis. Debe observarse al paciente durante tanto tiempo como se considere necesario por el investigador/médico basándose en el estado clínico del paciente y del cuidado de soporte administrado en caso necesario.

5

#### IL-2

IL-2 está disponible comercialmente a través de Chiron o de un fabricante local. El material liofilizado (22 millones de unidades) debe reconstituirse en 1,2 ml de diluyente, tras lo cual tendrá una vida útil de 48 horas cuando se mantenga refrigerada.

10

Debe revisarse la información de prescripción vigente antes de administrar IL-2.

#### IFN $\alpha$

15

IFN $\alpha$  está disponible comercialmente a través de una serie de fabricantes. Solo debe usarse en este estudio material comercialmente disponible aprobado por la autoridad reguladora nacional competente.

20

El IFN $\alpha$  puede suministrarse en jeringuillas precargadas de un solo uso o en "bolígrafos" precargados multiuso. Se instruirá a los pacientes acerca de la auto-administración de IFN $\alpha$  de acuerdo con el prospecto aprobado y el folleto de información al paciente por el personal médico, enfermero o de farmacia con las cualificaciones adecuadas. No se requiere reconstitución.

25

IFN $\alpha$  debe almacenarse a 2 °C a 8 °C (36 °F a 46 °F).

Debe revisarse la información de prescripción vigente antes de administrar IFN $\alpha$ .

#### Sunitinib

30

Sunitinib se suministra en forma de cápsulas de 12,5mg, 25mg y 50mg que deben administrarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Pfizer).

#### Otros suministros del estudio

35

Se usarán formularios de informe del caso (CRF) en este estudio (véase la sección de recogida de datos a continuación). También se suministrarán los cuestionarios de calidad de vida EuroQOL y QLQ30 y kits de laboratorio. El investigador clínico principal y los coinvestigadores deben custodiar todos los suministros de CRF, tanto completados como en blanco, en un lugar seguro.

40

#### Sucesos adversos

##### Definición de suceso adverso

45

Un suceso adverso es cualquier suceso médico no deseado en un paciente o sujeto de investigación clínica al que se le administra un producto farmacéutico y que no tiene que tener necesariamente una relación causal con el tratamiento. Todos los sucesos adversos deben describirse en la sección adecuada del CRF e indicarse su gravedad y supuesta relación con la medicación del estudio. Las definiciones de gravedad son las siguientes:

50

Leve: no interfiere con la consecución del estudio, se resuelve de manera espontánea, no necesita medicación o cualquier otra terapia.

Moderada: requiere tratamiento, interfiere temporalmente con la consecución del estudio.

55

Grave: fuerza el abandono del estudio.

Serio: muerte, potencialmente letal, requiere o prolonga la hospitalización, da como resultado una discapacidad/incapacidad persistente o significativa, sobredosificación, o es una anomalía congénita/defecto de nacimiento.

60

Las definiciones de la relación con la medicación del estudio son las siguientes:

No relacionado: no guarda relación con la pauta de la medicación, similar a los síntomas o signos esperados en el proceso de la enfermedad, no es recurrente al volver a exponerse.

65

Posiblemente: guarda relación con la pauta de la medicación, similar a los síntomas o signos esperados en el proceso de la enfermedad, no es recurrente al volver a exponerse.

Probablemente: guarda clara relación con la pauta de la medicación, distinto de los síntomas o signos esperados en el proceso de la enfermedad, no es recurrente al volver a exponerse.

5 Definitivamente: guarda clara relación con la pauta de la medicación, distinto de los síntomas o signos esperados en el proceso de la enfermedad, recurrente al volver a exponerse.

Los sucesos adversos también pueden esperarse o ser inesperados. Los efectos adversos se considerarán esperados si se encuentran listados en el Folleto del Investigador.

10 Definición de Suceso Adverso Grave (SAE) y Reacción Adversa Grave (SAR)

Se requiere a los investigadores que notifiquen al proveedor del servicio de farmacovigilancia de Oxford BioMedica (PAREXEL) inmediatamente si un paciente padece un suceso adverso grave comunicable. Un suceso adverso grave (SAE) se define por ICH-GCP como:

15 Muerte (la muerte debido al cáncer renal progresivo es el criterio de valoración primario de este estudio y no debe comunicarse como suceso adverso a menos que en la opinión del investigador, la medicación del estudio (TroVax®/placebo) pueda posiblemente, probablemente o definitivamente haber contribuido a o acelerado la muerte).

20 Potencialmente letal

Requiere o prolonga la hospitalización

25 Da como resultado una discapacidad/incapacidad persistente o significativa

Anomalía congénita/defecto de nacimiento

30 Otra afección médicamente importante que comience o empeore durante el estudio.

El investigador también tiene que completar todo lo posible el formulario de sucesos adversos graves de el formulario de informe del caso (CRF) y hacérselo llegar al proveedor del servicio de farmacovigilancia de Oxford BioMedica (PAREXEL) no más tarde de 24 horas después del conocimiento del suceso por parte del investigador o su personal.

35 A medida que esté disponible información adicional o de seguimiento, el investigador debe documentarla y enmendar cualquier informe previo, según sea adecuado. Esta información debe transferirse al proveedor del servicio de farmacovigilancia de Oxford BioMedica (PAREXEL) usando el formulario de suceso adverso grave en el CRF.

40 PAREXEL comunicará todos los sucesos adversos graves, relacionados, e inesperados a todas las Autoridades Reguladoras relevantes de acuerdo con la normativa local.

45 Las instrucciones adicionales acerca de la documentación y transferencia de documentación para permitir un cumplimiento total con los requisitos nacionales e internacionales de farmacovigilancia y de buenas prácticas clínicas junto con entrenamiento para el personal investigador se proporcionarán por separado a este protocolo.

Requisitos generales

50 Este estudio utilizará los criterios comunes de terminología para sucesos adversos, versión 3, para determinar la gravedad de la reacción para la comunicación de sucesos adversos.

Los requisitos y procedimientos de comunicación dependen de:

55 si se sospecha que los agentes causan el suceso adverso,

si se comunicó en el protocolo, consentimiento informado o bibliografía del fabricante (suceso adverso esperado o no esperado) la posibilidad de dicho suceso adverso,

60 la gravedad o el grado del suceso adverso.

Abandonos debido a sucesos adversos

65 Si un paciente abandona el tratamiento debido a un suceso adverso (AE), se efectuará un seguimiento del paciente hasta que se resuelva el AE o se haya estabilizado. Debido a que el criterio de valoración primario es la supervivencia, se continuará el seguimiento del paciente respecto del estado de supervivencia si se abandonó la terapia del ensayo.

El abandono del estudio, y el motivo del abandono, deben documentarse en el CRF.

5 Ya que el criterio de valoración primario de este estudio es la supervivencia y se incluirán todos los pacientes aleatorizados en el análisis del criterio de valoración primario, los pacientes que deseen abandonar todos los demás procedimientos relacionados con el estudio serán consultados acerca de si consentirían permitir un seguimiento limitado a establecer su estado de supervivencia. En caso de que acepten, debe completarse un nuevo formulario de consentimiento para documentar este consentimiento pero el abandono de todos los demás procedimientos del estudio.

10 Embarazo

Debe aconsejarse a los pacientes de que ellos, o sus compañeros, deben evitar el embarazo durante el estudio.

15 Los pacientes con potencial reproductivo deben adoptar medidas contraceptivas según sea necesario por el criterio de inclusión relevante (tal como se ha indicado anteriormente).

20 Si una paciente se quedase embarazada debería informar inmediatamente al investigador, que debería documentar esto en la página de sucesos adversos del CRF. El investigador debe proporcionar el consejo necesario al paciente. El investigador debe seguir el embarazo hasta su término. El aborto espontáneo o las anomalías fetales o el alumbramiento anormal deben comunicarse como sucesos adversos graves, tal como se ha descrito anteriormente.

Gestión de la toxicidad

25 Se utilizarán los criterios de terminología común del NCI para sucesos adversos v3.0 (CTCAE) (véase el Apéndice A). Se evaluará la toxicidad en cada visita del paciente.

Todos los sucesos tóxicos se gestionarán con cuidado de soporte óptimo, incluyendo transferencia a la unidad de cuidados intensivos en caso adecuado.

30 Manejo de la toxicidad de TroVax®/Placebo

35 No se permiten reducciones de la dosis de TroVax®/placebo. Puede usarse paracetamol/acetaminofén para controlar la pirexia transitoria o el malestar local después de la inyección. Si el paciente no puede tolerar TroVax®/placebo a la dosis del protocolo debe interrumpirse TroVax®/placebo pero el paciente debe continuar su seguimiento respecto de datos de supervivencia.

Manejo de la toxicidad del cuidado convencional

40 La toxicidad asociada con la terapia de cuidado convencional debe gestionarse de acuerdo con el prospecto o el resumen de características del producto aprobado nacionalmente y con la práctica médica aceptada. La dosificación puede reducirse o abandonarse a la discreción del investigador.

Manejo de datos y análisis estadístico

45 Revisión del diseño del estudio

50 El CCDS será responsable de preparar las reglas de control formales para este estudio; en esta sección del protocolo se describe una revisión general del programa de control. Oxford BioMedica proporcionará orientación al CCDS, sin embargo, el comité es un organismo independiente y se encargará de preparar las reglas de seguimiento y de parada para el estudio. Este estudio de diseño en paralelo contiene una serie de evaluaciones provisionales planeadas respecto de fertilidad, y para asegurar que los elementos de planeamiento en relación al desgaste y al criterio de valoración primario siguen siendo coherentes. La evaluación provisional inicial tendrá lugar después de que 50 pacientes (25 pacientes por rama o ~7 % de la población diana) hayan sido aleatorizados y seguidos durante 8 semanas cuando esté pautado que se vaya a efectuar el muestreo de sangre respecto de anticuerpos para 5T4 después de la tercera dosis de TroVax®. Los perfiles de sucesos adversos dentro del grupo de tratamiento, las tasas de desgaste, y la respuesta de anticuerpos se evaluarán por el CCDS. Las estimaciones de tamaño de la muestra para este estudio se predicen en supervivencia a un año.

60 Estimaciones del tamaño de la muestra

Se prepararon estimaciones para detectar una diferencia absoluta de ~11 % en supervivencia a 1 año (proporciones básicas: 50 % a 61 %); las estimaciones se presentan a continuación en la tabla A.

Tabla A: Estimaciones basadas en la supervivencia general

Potencia	Tamaño total de la muestra (N)	Sucesos totales necesarios	Alfa	Beta	Proporción de sup. (S1)	Proporción de sup. (S2)	Relación de riesgo
0,80	691	309	0,05	0,2	0,500	0,605	0,725

5 Un tamaño total de la muestra de ~700 pacientes (divididos a partes iguales entre los dos grupos), o 309 sucesos, logra una potencia del 80 % para detectar una tasa de riesgo de 0,725 cuando las proporciones supervivientes en cada grupo son de 0,500 y 0,605 con un nivel de significación del 0,05 usando una prueba de dos aspectos. Estas estimaciones representan el marco inicial para el control basado en el log de la relación de riesgo a partir del modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox sin ajustar para covariables.

10 Definiciones del informe

La potencia es la probabilidad de rechazar una hipótesis nula falsa.

Los sucesos son el número de fallecimientos (por cualquier causa) que tienen que suceder en cada grupo.

15 Alfa es la probabilidad de rechazar una hipótesis nula auténtica.

Beta es la probabilidad de aceptar una hipótesis nula falsa.

20 S1 es la proporción de supervivientes en el grupo 1, S2 es la proporción de supervivientes en el grupo 2.

HR es la relación de riesgo. Se calcula usando  $\text{Log}(S2)/\text{Log}(S1)$ .

25 Este tamaño de muestra también podría ser adecuado para detectar una diferencia mínima en la mediana de supervivencia de ~11,3 semanas, basándose en los tiempos de supervivencia exponencial (tabla B). Los detalles usados para preparar esta estimación se presentan a continuación.

Tabla B: Comparación de la mediana de supervivencia ( $H_0: \text{teta1} = \text{teta2}$ .  $H_a: \text{teta1} <> \text{teta2}$ )

Potencia	N1	N2	Tasa de asignación	Alfa	Beta	Teta1	Teta2	teta1/teta2.
0,80000	350	350	1,00000	0,05000	0,20000	48,0	59,3	0,80902

30 Definiciones del informe

La potencia es la probabilidad de rechazar una hipótesis nula falsa.

N1 es el número de fallos necesarios en el grupo 1, N2 es el número de fallos necesarios en el grupo 2.

35 Alfa es la probabilidad de rechazar una hipótesis nula auténtica.

Beta es la probabilidad de aceptar una hipótesis nula falsa.

40 Teta 1 es la vida media en el grupo 1, Teta 2 es la vida media en el grupo 2.

Poblaciones de pacientes

La población con intención de tratar (ITT) incluirá todos los pacientes que se aleatoricen.

45 La población con intención de tratar modificada (MITT), incluirá todos los pacientes que reciben tres o más inyecciones, o experimenten un suceso adverso atribuible directamente a la medicación del estudio que de como resultado la interrupción, antes de la tercera inyección. Los pacientes que no logren recibir satisfactoriamente tres inyecciones por motivos no asociados directamente a la medicación del estudio no se incluirán en esta población.

50 La población por protocolo (PP) incluye solo pacientes que cumplen los criterios de inclusión y exclusión y que se trataron de acuerdo con los requisitos del estudio.

55 El análisis de eficacia primario se llevará a cabo usando la población de ITT. Sin embargo, también se llevará a cabo un análisis exploratorio del parámetro de eficacia primaria usando la población MITT y la población PP. Todos los análisis de seguridad se llevarán a cabo usando la población con intención de tratar.

Control del criterio de valoración primario

60 El CCDS puede recomendar detener el ensayo de manera temprana si se presenta una evidencia de eficacia abrumadora.

La evidencia se considerará "abrumadora" si el valor de P de un aspecto en favor del tratamiento activo derivado del modelo de tiempo hasta la muerte de riesgos proporcionales de Cox es menor del 0,01 %. También debe considerarse el efecto general del tratamiento clínicamente plausible por el CCDS.

- 5 Los valores de P se ajustarán para mantener un valor de P general de un aspecto del 2,5 % usando la estrategia de gasto alfa de Lan y Demets (Lan KKG y DeMets DL (1983) Discrete sequential boundaries for clinical trials. *Biometrika* 70: 659-663).

10 El CCDS revisará en cada reunión el número de pacientes en los que no se ha logrado efectuar un seguimiento. Si el número de pacientes en los que no se ha logrado efectuar el seguimiento es lo suficientemente alto para comprometer los objetivos del estudio, el CCDS puede recomendar terminar el estudio basándose en que no abordará de manera eficaz su objetivo o como alternativa redimensionará el estudio para permitir que el objetivo del estudio se aborde de manera adecuada.

15 El CCDS también puede recomendar detener el ensayo de manera temprana si se le presentan pruebas de futilidad. En cada análisis provisional se calculará la potencia condicional. Si, teniendo en cuenta el contexto clínico completo, el CCDS considera la posibilidad de lograr un resultado estadísticamente significativo en un tamaño de muestra razonable que sea inaceptablemente bajo, el CCDS puede recomendar detener el ensayo.

20 La metodología para redimensionar el estudio seguirá la de Li, Shih, Xie y Lu (Li G, Shih WJ, Xie T y Lu J (2002) A sample size adjustment procedure for clinical trials based on conditional power. *Biostatistics* 3: 277-287).

#### Análisis estadísticos

25 A menos que se indique lo contrario, todas las pruebas estadísticas se llevarán a cabo usando pruebas dos aspectos con un nivel de significación del 5 %. El valor inicial se define como la última observación antes del inicio del tratamiento relacionado con el estudio. Los parámetros demográficos continuos, tales como la edad del paciente en el momento del enrolamiento, se resumirán para la población ITT usando estadística descriptiva (N, media, mediana, desviación estándar, valor mínimo y máximo, y límites de confianza al 95 % de dos aspectos) y se compararán entre grupos usando una prueba de 2 muestras. Se resumirán los parámetros categóricos como una proporción de la población ITT y se compararán usando una prueba exacta de Fisher de 2 colas. Los factores de riesgo de comorbilidad se resumirán para la población ITT por asignación de tratamiento y de acuerdo con el tipo de variable (categórica, continua) y se compararán entre grupos. Las estimaciones de Kaplan-Meier para el tiempo hasta la muerte se prepararán basándose en la población ITT. Las tasas de sucesos a los 12 y 24 meses se derivarán de las estimaciones de Kaplan-Meier. El número y proporción de pacientes vivos después de cada ciclo de tratamiento se tabularán y resumirán usando intervalos de confianza del 95 %. Se prepararán tablas separadas que contienen recuentos de pacientes, porcentajes e intervalos de confianza binomiales del 95 % basándose en factores de riesgo. No se imputarán datos de pacientes que abandonaron el estudio de manera prematura, o que tengan datos ausentes para parámetros específicos.

40 Se prepararán análisis de una variable para cada parámetro de laboratorio y se compararán entre grupos usando una prueba t de 2 muestras. Se comparará la proporción de pacientes con valores anormales considerados clínicamente significativos entre grupos de tratamiento usando una prueba exacta de Fisher de 2 colas. Se prepararán tablas de desplazamiento que contengan recuentos de pacientes y porcentajes por asignación de tratamiento, parámetro de laboratorio, y tiempo.

#### Demografía

50 Los datos demográficos de los pacientes se resumirán por tipo de variable; los datos categóricos por recuentos y porcentajes y las variables continuas mediante medias, desviaciones típicas, medianas, mínimo, máximo y número de pacientes.

#### Análisis de datos de eficacia

55 Las covariables convencionales para los análisis de eficacia son:

Región geográfica (tres grupos: EE.UU., Unión Europea, Europa del este, excluyendo la Unión Europea).

60 Cuidado convencional de primera línea (tres grupos: IL-2, interferon- $\alpha$ , sunitinib)

Índice pronóstico (puntuación de Motzer). (La puntuación de Motzer clasifica a los pacientes en tres grupos de pronóstico: "favorable", "intermedio" y "malo" basándose en un algoritmo que tiene en consideración el estado de rendimiento del pretratamiento, LDH, hemoglobina, y calcio en suero corregido. Los criterios de inclusión y exclusión imposibilitan el enrolamiento del grupo de pronóstico "malo". Todos los pacientes seleccionables estarán abarcados en los dos grupos restantes).

65



Primario

5 El criterio de valoración primario es el tiempo hasta la muerte. El tiempo hasta la muerte se analizará en la población ITT usando un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox con términos para las covariables de tratamiento y de eficacia estándar.

Secundario

10 El criterio de valoración secundario de eficacia se analizará siguiendo los procedimientos estadísticos presentados a continuación.

Criterio de valoración: La proporción de pacientes con supervivencia libre de progresión a las 26 semanas (+/- 1 semana) basándose en datos radiológicos en la población ITT.

15 Se analizará la proporción de pacientes con supervivencia libre de progresión a las 26 semanas (+/- 1 semana) en relación a la inicial usando un modelo de regresión logística con términos para las covariables de tratamiento y de eficacia convencional. Los datos se analizarán y se adjudicarán usando la población ITT (revisión por pares enmascarada).

20 Criterio de valoración: Tasas de respuesta tumoral basadas en RECIST de acuerdo con la interpretación comunicada por el investigador de los informes radiológicos observados en la población ITT.

25 Se comparará tanto la tasa como la duración de la respuesta tumoral entre grupos de tratamiento. Las tasas de respuesta se compararán entre grupos de tratamiento y se analizarán usando un modelo de regresión logística con términos para las covariables de tratamiento y de eficacia estándar. La duración de la respuesta se analizará usando un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox con términos para las covariables de tratamiento y eficacia estándar.

30 Criterio de valoración: La tasa de suceso de supervivencia en la rama de TroVax® frente a la rama de placebo en la población MITT, basándose en el log de la relación de riesgo.

35 El tiempo hasta la muerte se analizará usando un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox con términos para las covariables de tratamiento y eficacia estándar. Las curvas de supervivencia para la proporción de pacientes que permanecen libres de sucesos se estimarán usando el método de Kaplan-Meier.

Criterio de valoración: Niveles de anticuerpo anti-5T4 en suero (se investigarán las medidas adicionales de respuesta inmunitaria, incluyendo medidas específicas de respuesta celular en algunos centros).

40 Se analizará la respuesta cualitativa de anticuerpos a 5T4 en el grupo de tratamiento activo como un efecto principal usando un modelo de regresión logística con términos para las covariables de eficacia convencional.

El análisis de los parámetros de calidad de vida (QOL) se discute a continuación.

Análisis de los datos de sucesos adversos

45 La seguridad se evaluará usando la población con intención de tratar. Los sucesos adversos se codificarán usando la clasificación MedDRA para proporcionar un término preferido y una clase de órgano para cada suceso. Se presentarán las proporciones de pacientes con sucesos adversos. Las tablas de sucesos adversos se presentarán por clase de órgano y también por clase de órgano y término preferido. Estas tablas incluirán también los totales generales para sucesos adversos en cada sistema del organismo y clase de órgano. Se tabulará el número de pacientes con un suceso en cada clasificación de gravedad y relación con el tratamiento en cada grupo de tratamiento. Se listarán por separado los sucesos adversos graves y los sucesos adversos que originen el abandono.

55 Los sucesos emergentes y no emergentes por el tratamiento se presentarán por separado. Los sucesos adversos emergentes del tratamiento se definen como sucesos adversos que tuvieron un día de aparición o después del día de la primera dosis de la medicación del estudio. Los sucesos adversos que tengan fechas de aparición ausentes se considerarán como emergentes por el tratamiento.

60 Los sucesos adversos se listarán por paciente entre grupos que muestren tiempo de aparición, periodo del evento, gravedad, relación con la enfermedad y resultado.

Parámetros de QOL

65 Los resultados del cuestionario de QOL (EuroQoL y QLQ30) se presentarán para las poblaciones ITT y por protocolo. Los resultados del cuestionario de QOL se analizarán usando una estrategia de modelado lineal

generalizada basada en la máxima probabilidad, tratando a los pacientes como un efecto al azar en el modelo. Se incluirán términos para las covariables de eficacia estándar.

Medicación concomitante

5

La medicación concomitante se listará por paciente, asignación de tratamiento, y visitas del estudio.

Signos vitales

10

Los signos vitales que se recogerán durante el transcurso del estudio incluyen presiones sanguíneas sistólicas y diastólicas (mmHg), frecuencia cardíaca (lpm), temperatura corporal ( °C/ °F), y peso (kg). Los signos vitales se resumirán usando estadística univariable (N, media aritmética, desviación estándar, mediana, e intervalo) para cada evaluación clínica y se presentan para la cohorte de pacientes que tienen datos en la visita inicial y al menos una de las visitas de seguimiento específicas. Además de la estadística univariable, se analizarán los cambios respecto del inicio en cada visita de evaluación de seguimiento usando una prueba de t de diferencias emparejadas para el cambio de media entre grupo respecto del inicio. Además, también se comunicarán los límites del intervalo de confianza al 95 % para el cambio medio respecto del inicio.

15

20

Las tasas de incidencia de cambios clínicamente notables en los signos vitales, incluyendo los criterios para clínicamente notables, se resumirán y presentarán en un listado de datos del paciente. Las anomalías de signos vitales y peso corporal con una significación clínica potencial se definirán del modo siguiente:

25

- Cambio en la presión sanguínea sistólica  $\geq 20$  mmHg y un valor de presión sanguínea sistólica que era  $\geq 180$  o  $\leq 90$  mmHg

30

- Cambio en la presión sanguínea diastólica  $\geq 15$  mmHg y un valor de presión sanguínea diastólica que era  $\geq 105$  o  $\leq 50$  mmHg

35

- Cambio del pulso  $\geq 15$  lpm y un valor del pulso que fuese  $\geq 120$  o  $\leq 50$  lpm

- Cambio de temperatura  $\geq 1$  °C/2 °F y un valor de temperatura que fuese  $\geq 38$  °C/101 °F

- Disminución del peso corporal  $\geq 5$  %

- Los signos vitales anormales clínicamente significativos se marcarán y presentarán usando recuentos por visita del estudio.

40

Se proporcionará un listado adicional para aquellos pacientes que tengan anomalías de signos vitales clínicamente significativas.

Otros parámetros de seguridad

45

Todos los demás parámetros de seguridad se listarán por paciente, asignación de tratamiento, y periodo de tratamiento del estudio.

Parámetros de laboratorio

50

La hematología, bioquímica y otros datos de laboratorio se listarán en cada instante por grupo de tratamiento y, para los valores adecuados, se marcarán usando los intervalos de laboratorio indicados como Alto/Bajo/dentro del intervalo normal de laboratorio (H, L).

Los cambios respecto de los iniciales también se listarán y se marcarán los cambios anormales respecto del inicio.

55

Se proporcionará un listado adicional para aquellos pacientes que tengan valores de laboratorio que sean anormales y que se consideren clínicamente significativos.

Abandonos

60

El número (%) de pacientes que abandonen el estudio con el paso del tiempo, junto con sus motivos para el abandono, se tabulará.

Fallecimientos

65

Se listarán todos los fallecimientos que tengan lugar durante el periodo de tratamiento del estudio y su periodo de seguimiento.

Determinación de comparabilidad de grupo de tratamiento

Se resumirán la demografía del paciente y los historiales de enfermedades para cada grupo de tratamiento y se compararán entre grupos de tratamiento.

Asignación de tratamiento

5 Se aleatorizará a los pacientes usando un esquema de aleatorización central estratificado. Dado el enrolamiento diana inicial y el número de sitios clínicos propuesto, no se consideró factible intentar equilibrar el enrolamiento de manera intra-centro usando un esquema de aleatorización determinístico. Por ejemplo, si se aleatorizara a los pacientes intra-centro usando bloques aleatorizados de 4, y en 50 % de los sitios no lograsen rellenar un bloque completo, podría desarrollarse un desequilibrio de enrolamiento entre los 2 grupos, dando como resultado una pérdida de potencia estadística. Para eliminar este potencial desequilibrio, se usará un esquema de aleatorización central, equilibrando en bloques de 4 dentro de áreas geográficas (normalmente países) implicando a múltiples sitios.

15 Estratificación

Se estratificará a los pacientes según el cuidado convencional seleccionado, el indicador pronóstico (puntuación de Motzer), zona geográfica, e institución. La estratificación se llevará a cabo por el IVRS.

20 Resultados

Después del fin anunciado del ensayo, se desenmascararon los datos inmunológicos y de respuesta clínica. Se llevó a cabo un análisis exploratorio con el objetivo principal de identificar correlaciones potenciales entre parámetros y la supervivencia potenciada de pacientes.

25 Los análisis se centraron únicamente en los biomarcadores detectados en pacientes que se sabe que recibieron TroVax<sup>®</sup>. Se ha analizado la magnitud del nivel de biomarcador. Entonces se categorizó a cada paciente dentro de la categoría de "por encima de la mediana" o "por debajo de la mediana" o a la categoría de bajo o alto nivel. Se comparó la supervivencia de pacientes en cada categoría representando curvas de Kaplan-Meier.

30 La figura 1 ilustra los efectos del calcio corregido "por encima de la mediana" y "por debajo de la mediana" en la supervivencia del paciente en los pacientes de TRIST tratados con TroVax<sup>®</sup>.

35 Los datos resumidos en la figura 1 sugieren que los pacientes con niveles de calcio corregido menores (por debajo de la mediana) sobreviven durante más tiempo que aquellos con niveles de calcio corregido por encima de la mediana. Las figuras 2 y 3 confirman este efecto, y en particular que este continua a medida que se reduce el nivel de calcio adicionalmente por debajo de la mediana.

40 La figura 4 ilustra los efectos del nivel de plaquetas "por encima de la mediana" y "por debajo de la mediana" en la supervivencia del paciente en los pacientes de TRIST tratados con TroVax<sup>®</sup>.

45 Los datos resumidos en la figura 4 sugieren que los pacientes con niveles de plaquetas menores (por debajo de la mediana) sobreviven durante más tiempo que aquellos con niveles de plaquetas por encima de la mediana. La figura 5 confirma que este efecto continua a medida que se reduce adicionalmente el nivel de plaquetas por debajo de la mediana.

La figura 6 ilustra los efectos del nivel hemoglobina en la supervivencia del paciente en los pacientes de TRIST tratados con TroVax<sup>®</sup>. Los datos resumidos en la figura 6 sugieren que los pacientes con niveles mayores de hemoglobina sobreviven durante más tiempo que aquellos con menores niveles de hemoglobina.

50 La figura 7 ilustra los efectos del nivel creatinina en la supervivencia del paciente en los pacientes de TRIST tratados con TroVax<sup>®</sup>. Los datos resumidos en la figura 7 sugieren que los pacientes con niveles mayores de creatinina sobreviven durante más tiempo que aquellos con menores niveles de creatinina.

55 En las figuras 8 a 10 se resumen el efecto general del calcio corregido, la creatinina y la hemoglobina iniciales en la supervivencia de pacientes de TRIST tratados con TroVax<sup>®</sup>.

Ejemplo 2 - Pacientes del análisis de supervivencia de fase II (CRC) - Efecto de factores en la supervivencia del paciente

60 Se analizaron los resultados de los ensayos descritos en los siguientes artículos:

Vaccination of colorectal cancer patients with modified vaccinia Ankara delivering the tumor antigen 5T4 (TroVax) induces immune responses which correlate with disease control: a phase I/II trial. Harrop R, Connolly N, Redchenko I, Valle J, Saunders M, Ryan mg, Myers KA, Drury N, Kingsman SM, Hawkins RE, Carroll MW. Clin Cancer Res. 1 de jun de 2006;12(11 Pt 1):3416-24.

An MVA-based vaccine targeting the oncofetal antigen 5T4 in patients undergoing surgical resection of colorectal cancer liver metastases. Elkord E, Dangoor A, Drury NL, Harrop R, Burt DJ, Drijfhout JW, Hamer C, Andrews D, Naylor S, Sherlock D, Hawkins RE, Stem PL. *J Immunother.* noviembre-diciembre de 2008;31(9):820-9.

5 Vaccination of colorectal cancer patients with TroVax given alongside chemotherapy (5-fluorouracil, leukovorin and irinotecan) is safe and induces potent immune responses. Harrop R, Drury N, Shingler VV, Chikoti P, Redchenko I, Carroll MW, Kingsman SM, Naylor S, Griffiths R, Steven N, Hawkins RE. *Cancer Immunol Immunother.* jul de 2008;57(7):977-86.

10 Vaccination of colorectal cancer patients with modified vaccinia ankara encoding the tumor antigen 5T4 (TroVax) given alongside chemotherapy induces potent immune responses. Harrop R, Drury N, Shingler VV, Chikoti P, Redchenko I, Carroll MW, Kingsman SM, Naylor S, Melcher A, Nicholls J, Wassan H, Habib N, Anthony A. *Clin Cancer Res.* 1 de ago de 2007;13(15 Pt 1):4487-94.

15 Se llevó a cabo un análisis exploratorio con el objetivo principal de identificar correlaciones potenciales entre parámetros y la supervivencia potenciada de pacientes.

Los análisis se centraron únicamente en los biomarcadores detectados en pacientes que se sabe que recibieron TroVax®. Se ha analizado la magnitud del nivel de biomarcador. Entonces se categorizó a cada paciente dentro de la categoría de "por encima de la mediana" o "por debajo de la mediana" o a la categoría de bajo o alto nivel. Se comparó la supervivencia de pacientes en cada categoría representando curvas de Kaplan-Meier.

20 La figura 11 ilustra los efectos del nivel de plaquetas "por encima de la mediana" y "por debajo de la mediana" en la supervivencia del paciente en los pacientes de CRC tratados con TroVax®.

25 Los datos resumidos en la figura 12 sugieren que los pacientes con menores niveles de plaquetas sobreviven durante más tiempo que aquellos con niveles más altos de plaquetas. Este efecto se confirma en la figura 13, que también incluye los resultados de dos ensayos de RRC, a saber:

30 - Ensayo clínico de fase II (estudio monocéntrico) A preliminary study of the safety, immunogenicity and clinical efficacy of TroVax® given in conjunction with interleukin 2 (IL-2) in the treatment of stage IV renal cell cancer, Número IND 11433; y

35 - A phase I/II feasibility trial to assess the safety, immunological activity and efficacy of TroVax® plus interferon  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) in patients with advanced or metastatic renal cell cancer. Número EudraCT: 2006-000753-22. Número GTAC: 117.

Los detalles acerca de estos ensayos pueden encontrarse en [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov).

40 La figura 14 muestra la influencia de los niveles iniciales de plaquetas en la supervivencia de pacientes en un estadio posterior que la figura 13. Puede observarse que los niveles de plaquetas por debajo del intervalo normal se asocian con una supervivencia mejorada en favor de TroVax® frente a placebo.

45 La figura 15 ilustra los efectos del nivel de hemoglobina "por encima de la mediana" y "por debajo de la mediana" en la supervivencia del paciente en los pacientes de CRC tratados con TroVax® en los cuatro ensayos de CRC anteriormente mencionados. Los datos resumidos en la figura 15 sugieren que los pacientes con niveles mayores de hemoglobina sobreviven durante más tiempo que aquellos con menores niveles de hemoglobina.

50 La figura 16 ilustra los efectos del nivel de creatinina "por encima de la mediana" y "por debajo de la mediana" en la supervivencia del paciente en los pacientes de CRC tratados con TroVax® en los cuatro ensayos de CRC anteriormente mencionados. Los datos resumidos en la figura 16 sugieren que los pacientes con niveles mayores de creatinina sobreviven durante más tiempo que aquellos con menores niveles de creatinina.

55 La figura 17 muestra la influencia de los niveles de monocitos iniciales en la supervivencia de pacientes en el mismo estadio que en la figura 14. Puede observarse que los niveles de plaquetas por debajo del intervalo normal se asocian con una supervivencia mejorada en favor de TroVax® frente a placebo.

60 La figura 18 muestra que los pacientes con hematología normal muestran una tendencia de beneficio de la supervivencia. Por lo tanto, los niveles iniciales de monocitos, plaquetas y hemoglobina dentro niveles iniciales normales se asocian con una relación de riesgo reducida en favor de TroVax®.

### Ejemplo 3 - Análisis de supervivencia

65 A partir de los análisis previos comunicados anteriormente, cuatro variables (plaquetas, monocitos, glóbulos blancos sanguíneos (GBS) y hemoglobina) se seleccionaron para su examen en más detalle. En este análisis, se examinaron el cambio en el efecto del tratamiento entre subconjuntos de pacientes definidos por valores iniciales de plaquetas, monocitos, GBS y hemoglobina.

Objetivo y métodos

Objetivo

- 5 Estimar y representar la relación de riesgo ajustada a lo largo de los niveles iniciales de plaquetas, monocitos, glóbulos blancos sanguíneos y hemoglobina cambiantes iniciales.

Métodos

- 10 Se crearon subconjuntos de pacientes usando los puntos de corte definidos por los percentiles 10<sup>o</sup>, 25<sup>o</sup>, 50<sup>o</sup>, 75<sup>o</sup> y 90<sup>o</sup> para cada uno de los cuatro factores. Para cada subconjunto, se estimó la relación de riesgo ajustada (que se ajustó para desequilibrios en factores pronósticos entre las dos ramas de tratamiento) usando un modelo de riesgos proporcionales de Cox. Ya que había un número limitado de pacientes y sucesos en los subconjuntos, no fue posible incluir todas las variables pronósticas conocidas, en consecuencia, las variables pronósticas que se incluirían en el modelo se seleccionaron un procedimiento de selección retrógrada con un criterio de selección del 10 %. La relación de riesgo ajustada y los intervalos de confianza del 95 % se representaron por valores descendentes y ascendentes de concentración inicial.

- 20 Este análisis se llevó a cabo en datos de supervivencia maduros culminados el 13 de marzo de 2009 (descargados el 1 de junio de 2009).

- 25 La tabla 1 lista las variables pronósticas incluidas en el modelo inicial antes del procedimiento de selección. No se incluyó en el modelo el factor específico que se estaba investigando como factor de confusión (por ejemplo, cuando se estima la relación de riesgo para subconjuntos definidos por los niveles iniciales de monocitos, no se incluyeron los monocitos como factor de confusión en el modelo). Cuando se definieron los subconjuntos según GBS, además de no incluir GBS en el modelo, los monocitos, neutrófilos y linfocitos tampoco se incluyeron.

Tabla 1: Factores pronósticos conocidos de la bibliografía incluidos en el modelo inicial

factores pronósticos *
Variables de paciente
Edad
Género
Índice de masa corporal (IMC)
Puntuación de Karnofsky
Variables bioquímicas de la sangre
Fosfatasa alcalina
Calcio Corregido
Hemoglobina
LDH
Sodio
Linfocitos
Monocitos
Neutrófilos
Plaquetas
Variables tumorales
Número total de sitios metastásicos
Número de lesiones óseas
Número de lesiones hepáticas
Número de lesiones en nódulos linfáticos
* El modelo también incluyó cuidado convencional (INF-alfa, IL-2, sutent), y la rama de tratamiento (TroVax, placebo). Las variables listadas son factores pronósticos conocidos en el carcinoma de células renales obtenidos a partir de una búsqueda bibliográfica.

- 30 Resultados

Plaquetas

- 35 Puede observarse en la tabla 2 y en la figura 19, que la relación de riesgo difería entre subconjuntos de pacientes definida por la concentración de plaquetas. En pacientes con plaquetas  $\leq 232$ , la relación de riesgo fue de 0,52 (IC 95 % 0,29, 0,93), por lo que el riesgo de fallecimiento fue aproximadamente un 50 % menor en TroVax comparado con placebo. Por el contrario, se descubrió que el riesgo fue mayor en TroVax comparado con placebo para pacientes que tenían plaquetas  $> 288$ , sin embargo, este resultado no fue significativo al nivel del 5 %.

40

Tabla 2: Relación de riesgo ajustada y CI 95 % para subconjuntos definidos por niveles iniciales de plaquetas

percentil	nivel de plaquetas	n (sucesos)	Relación de riesgo	IC 95 %	valor de p
10 %	≤196	73 (20)	0,24	(0,07,0,77)	0,017
25 %	≤232	182 (55)	0,52	(0,29,0,93)	0,032
90 %	≥492	74 (59)	1,74	(0,98,3,09)	0,058

Monocitos

5 Puede observarse en la tabla 3 y en la figura 20, que la relación de riesgo difería entre subconjuntos de pacientes definida por el nivel de monocitos. En pacientes con monocitos ≤ 0,30, la relación de riesgo fue de 0,59 (IC 95 % 0,37, 0,97), por lo que el riesgo de fallecimiento fue aproximadamente un 40 % menor en TroVax comparado con placebo. Por el contrario, en pacientes con monocitos > 0,42, la relación de riesgo fue de 1,41 (IC 95 % 1,02, 1,94).

10 Tabla 3: Relación de riesgo ajustada y CI 95 % para subconjuntos definidos por niveles iniciales de monocitos

percentil	Nivel de monocitos	n (sucesos)	Relación de riesgo	IC 95 %	valor de p
25 %	≤0,30	190 (79)	0,59	(0,37,0,97)	0,038
50 %	>0,42	347 (164)	1,41	(1,02,1,94)	0,035

Glóbulos blancos sanguíneos (GBS)

15 Puede observarse en la tabla 4 y en la figura 21, que la relación de riesgo difería entre subconjuntos de pacientes definida por el nivel de GBS. En pacientes con GBS ≤ 5,9, la relación de riesgo fue de 0,72 (IC 95 % 0,44, 1,18). Por el contrario, en pacientes con GBS > 7,2, la relación de riesgo fue de 1,12 (IC 95 % 0,82, 1,52).

Tabla 4: Relación de riesgo ajustada y CI 95 % para subconjuntos definidos por niveles iniciales de GBS

percentil	GBS	n (sucesos)	Relación de riesgo	IC 95 %	valor de p
10 %	≤5,0	74 (24)	0,63	(0,26,1,53)	0,308
25 %	≤5,9	195 (68)	0,72	(0,44,1,18)	0,194
50 %	≤7,2	377 (144)	0,99	(0,70,1,38)	0,942
50 %	>7,2	354(186)	1,12	(0,82,1,52)	0,469
75 %	≥8,6	184(110)	1,2	(0,81,1,78)	0,357
90 %	≥10,4	76 (54)	1,3	(0,74,2,27)	0,355

20 Hemoglobina

Puede observarse en la tabla 5 y en la figura 22, que la relación de riesgo difería entre subconjuntos de pacientes definida por nivel de hemoglobina. En pacientes con hemoglobina ≤ 13,2, la relación de riesgo fue de 1,24 (IC 95 % 0,93, 1,64). Por el contrario, en pacientes con hemoglobina > 15,2, la relación de riesgo fue de 0,26 (IC 95 % 0,10, 0,68).

25 Tabla 5: Relación de riesgo ajustada y CI 95 % para subconjuntos definidos por niveles iniciales de hemoglobina

percentil	hemoglobina	n (sucesos)	Relación de riesgo	IC 95 %	valor de p
10 %	≤10,4	76 (63)	0,81	(0,47,1,38)	0,430
25 %	≤11,6	186 (139)	1,01	(0,71,1,44)	0,936
50 %	≤13,2	368 (215)	1,24	(0,93,1,64)	0,141
50 %	>13,2	363 (115)	0,82	(0,57,1,18)	0,292
75 %	≥14,4	187 (55)	0,78	(0,40,1,23)	0,219
90 %	≥15,2	83 (25)	0,26	(0,10,0,68)	0,006

Conclusiones

30 Estos datos sugieren que hay un diferencial de riesgo-beneficio para la supervivencia de pacientes dependiente de los niveles relativos de determinados biomarcadores. Estos datos pueden usarse para planear estrategias de tratamiento para maximizar la ventaja de supervivencia de las inmunoterapias dirigidas a 5T4 que incluyen identificar características del paciente que puedan predecir este tipo de respuesta mediante la evaluación del estado inicial.

35 A continuación también se describirán diversas características con referencia los siguientes párrafos numerados:

1. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de calcio corregido en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de calcio corregido en la muestra con un nivel de referencia de calcio corregido, en el que un menor nivel de calcio corregido en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.

2. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de calcio corregido en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se

clasifica que el primer grupo de pacientes que tienen bajos niveles de calcio corregido tienen una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tienen altos niveles de calcio corregido.

- 5 3. Un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer que implica (a) determinar un nivel de calcio corregido en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de calcio corregido en una muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de calcio corregido antes del tratamiento con el nivel de calcio corregido después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.
- 10 4. Un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que responderán a la inmunoterapia que comprende comparar los niveles diferenciales de calcio corregido.
- 15 5. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de plaquetas en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de plaquetas en la muestra con un nivel de referencia de plaquetas, en el que un menor nivel de plaquetas en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.
- 20 6. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de plaquetas en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tiene bajos niveles de plaquetas tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene altos niveles de plaquetas.
- 25 7. Un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer que implica (a) determinar un nivel de plaquetas en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de plaquetas en una muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de plaquetas antes del tratamiento con el nivel de plaquetas después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.
- 30 8. Un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que responderán a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de plaquetas.
- 35 9. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de hemoglobina en la muestra con un nivel de referencia de hemoglobina, en el que un mayor nivel de hemoglobina en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.
- 40 10. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tiene altos niveles de plaquetas tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene bajos niveles de hemoglobina.
- 45 11. Un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer que implica (a) determinar un nivel de hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de hemoglobina en una muestra del paciente después del tratamiento, mediante el cual la comparación del nivel de hemoglobina antes del tratamiento con el nivel de hemoglobina después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.
- 50 12. Un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que responderán a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de hemoglobina.
- 55 13. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de creatinina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de creatinina en la muestra con un nivel de referencia de creatinina, en el que un mayor nivel de creatinina en la muestra se correlaciona con un mayor beneficio para el paciente.
- 60 14. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir un nivel de creatinina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tiene altos niveles de plaquetas tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene bajos niveles de creatinina.
- 65

- 5 15. Un método para controlar la eficacia de un ciclo de tratamiento para un paciente con cáncer que implica (a) determinar un nivel de creatinina en una muestra del paciente de cáncer antes del tratamiento de inmunoterapia, y (b) determinar el nivel de creatinina en la muestra del paciente después del tratamiento, en el que la comparación del nivel de creatinina antes del tratamiento con el nivel de creatinina después del tratamiento indica la eficacia del tratamiento.
- 10 16. Un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que responderán a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de creatinina.
- 15 17. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir los niveles de uno o más de calcio corregido, plaquetas, hemoglobina y creatinina y (b) comparar el nivel de calcio corregido, plaquetas, hemoglobina y creatinina en la muestra con un nivel de referencia de calcio corregido, plaquetas, hemoglobina y creatinina, según sea adecuado, en el que un bajo nivel de calcio corregido o un bajo nivel de plaquetas, y/o un alto nivel de hemoglobina o un alto nivel de creatinina en dicha muestra se correlaciona con un mayor beneficio para dicho paciente.
- 20 18. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe un tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir los niveles de calcio corregido, plaquetas, hemoglobina y/o creatinina y de uno o más factores seleccionados entre el grupo que consiste en: cloruro, eosinófilos, hematocrito, sodio, basófilos, calcio en suero, monocitos, neutrófilos y GBS y (b) comparar el nivel de calcio corregido, plaquetas, hemoglobina y/o creatinina y de los uno o más biomarcadores seleccionados en la muestra con un nivel de referencia de calcio corregido, plaquetas, hemoglobina y/o creatinina y de los uno o más biomarcadores seleccionados, en el que un bajo nivel de calcio corregido y/o plaquetas, un alto nivel de hemoglobina y/o creatinina, y un alto nivel de cualquiera de cloruro, eosinófilos, hematocrito, sodio y/o un bajo nivel de cualquiera de basófilos, calcio en suero, monocitos, neutrófilos y GBS en dicha muestra se correlaciona con un mayor beneficio para dicho paciente.
- 25 19. El método de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos precedentes, en el que el cáncer es carcinoma invasivo de la ampolla de Vater, de mama, de colon, endometrio, páncreas, o estómago; un carcinoma escamosos de vejiga, de cuello de útero, pulmón o esófago; un adenoma tubulovelloso de colon; un tumor Muleriano mixto maligno del endometrio; un carcinoma de células claras del riñón; un cáncer de pulmón (macrocitico indiferenciado, carcinoma de células gigantes, carcinoma bronco-alveolar, leimiosarcoma metastásico; un cáncer de ovarios (un tumor de Brenner, cistadenocarcinoma, teratoma sólido); un cáncer de testículos (seminoma, teratoma cístico maduro); un fibrosarcoma de tejidos blandos; un teratoma (tumores de células germinales anaplásicas); o un cáncer trofoblástico (coriocarcinoma (por ejemplo, en útero, pulmón o cerebro), tumor del sitio placentario, mola hidatidiforme).
- 30 20. El método de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos precedentes, en el que el cáncer es cáncer renal o cáncer colorrectal.
- 35 21. El método de acuerdo con uno cualquiera de los párrafos precedentes en el que la inmunoterapia comprende el uso de 5T4.
- 40 22. El método de acuerdo con el párrafo 21 en el que la inmunoterapia comprende el uso de un vector viral que expresa 5T4.
- 45 23. El método de acuerdo con el párrafo 22 en el que la inmunoterapia comprende el uso de un vector viral de Vaccinia Ankara Modificado que expresa 5T4.
- 50 24. El método de acuerdo con el párrafo 23 en el que la inmunoterapia comprende el uso de un vector viral de Vaccinia Ankara Modificado que expresa el gen 5T4 humano bajo el control regulador de un promotor de mH5 modificado (TroVax®).

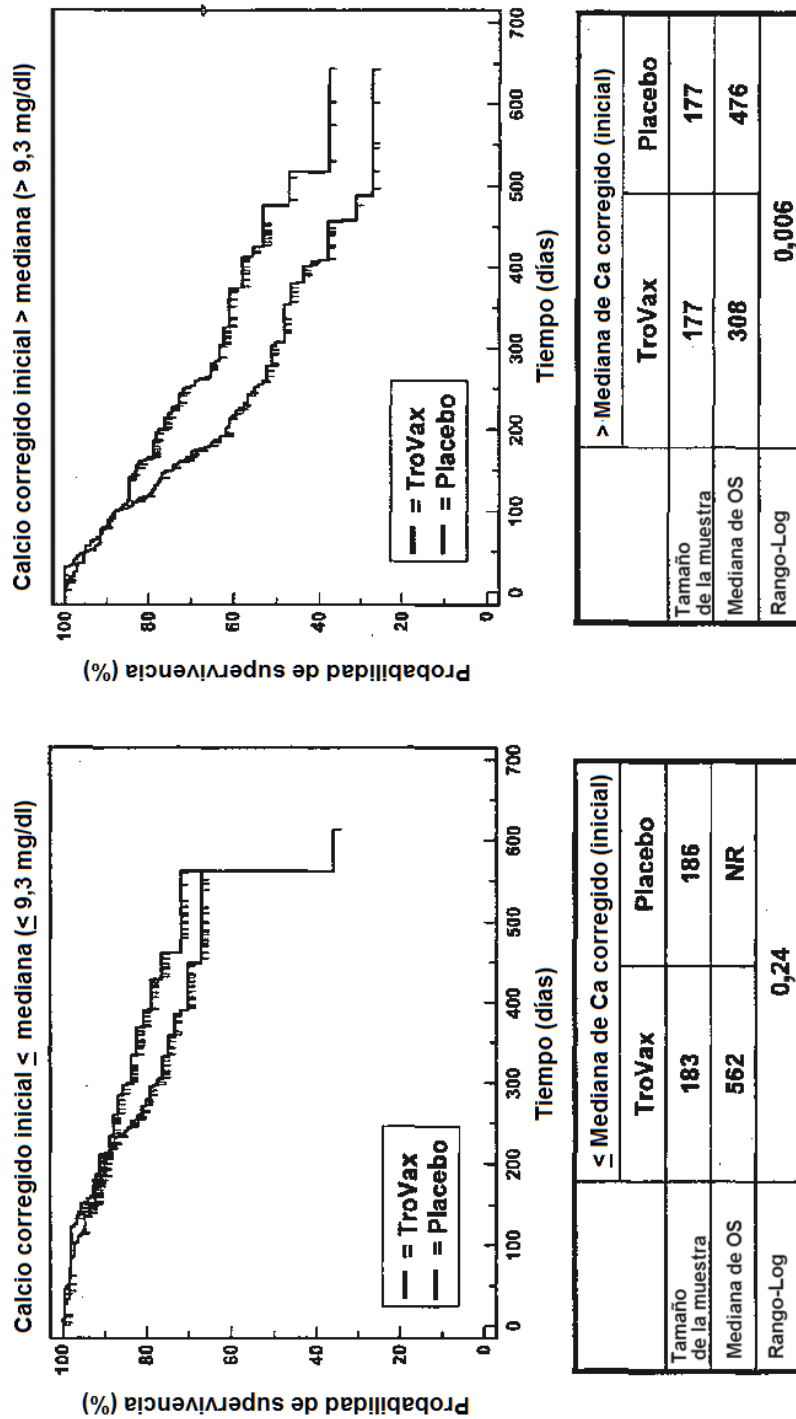


## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia, en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de 5T4, que implica (a) medir un nivel de plaquetas y hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comparar el nivel de plaquetas en la muestra con un nivel de referencia de plaquetas y comparar el nivel de hemoglobina en la muestra con un nivel de referencia de hemoglobina, en el que un nivel menor de plaquetas y un nivel mayor de hemoglobina en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.
- 10 2. Un método de la reivindicación 1, en el que (a) comprende además medir un nivel de monocitos en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comprende además comparar el nivel de monocitos en la muestra con el nivel de referencia de monocitos, en el que un nivel menor de monocitos en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.
- 15 3. Un método de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, en el que (a) comprende además medir un nivel de glóbulos blancos sanguíneos (GBS) en una muestra del paciente de cáncer, y (b) comprende además comparar el nivel de GBS en la muestra con un nivel de referencia de GBS, en el que un menor nivel de GBS en la muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para el paciente.
- 20 4. Un método para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia, en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de 5T4, que implica (a) medir un nivel de plaquetas y hemoglobina en una muestra del paciente de cáncer, y (b) clasificar al paciente como perteneciente a un primer grupo o a un segundo grupo de pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tiene niveles menores de plaquetas que un nivel de referencia de plaquetas y niveles mayores de hemoglobina que un nivel de referencia de hemoglobina, tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene mayores niveles de plaquetas y menores niveles de hemoglobina.
- 25 5. Un método de la reivindicación 4 en el que (a) comprende además medir un nivel de monocitos en una muestra del paciente de cáncer y (b) comprende además clasificar a los pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tiene menores niveles de monocitos que un nivel de referencia de monocitos tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene mayores niveles de monocitos.
- 30 6. Un método de la reivindicación 4 o de la reivindicación 5 en el que (a) comprende además medir un nivel de GBS en una muestra del paciente de cáncer y (b) comprende además clasificar a los pacientes, en el que se clasifica que el primer grupo de pacientes que tiene menores niveles de GBS que un nivel de referencia de GBS tiene una probabilidad aumentada de beneficio que el segundo grupo de pacientes que tiene mayores niveles de GBS.
- 35 7. Un método para predecir la capacidad de respuesta de un paciente o población de pacientes con cáncer al tratamiento con inmunoterapia, o para seleccionar pacientes o poblaciones de pacientes que responderán a la inmunoterapia, que comprende comparar los niveles diferenciales de plaquetas y los niveles diferenciales de hemoglobina y en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de 5T4.
- 40 8. Un método de la reivindicación 7 que además comprende comparar los niveles diferenciales de monocitos.
- 45 9. Un método de la reivindicación 7 o de la reivindicación 8 que además comprende comparar los niveles diferenciales de GBS.
- 50 10. Un método de la reivindicación 1 para determinar un pronóstico de beneficio para un paciente de cáncer que recibe tratamiento de inmunoterapia que implica (a) medir los niveles de plaquetas, y hemoglobina y/o monocitos y/o GBS y de uno o más biomarcadores seleccionados entre el grupo que consiste en: calcio corregido, creatinina, cloruro, eosinófilos, hematocrito, sodio, basófilos, calcio en suero, y neutrófilos y (b) comparar el nivel de plaquetas, y hemoglobina y/o monocitos y/o GBS y del uno o más biomarcadores seleccionados en la muestra con un nivel de referencia de plaquetas, hemoglobina, monocitos y/o GBS y del uno o más biomarcadores seleccionados, en el que un bajo nivel de plaquetas, monocitos y/o GBS, un alto nivel de hemoglobina, y un alto nivel de cualquiera de creatinina, cloruro, eosinófilos, hematocrito, sodio y/o un bajo nivel de cualquiera de calcio corregido, basófilos, calcio en suero, y neutrófilos en dicha muestra se correlaciona con un beneficio aumentado para dicho paciente.
- 55 11. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el cáncer es carcinoma invasivo de la ampolla de Vater, de mama, de colon, endometrio, páncreas, o estómago; un carcinoma escamoso de vejiga, de cuello de útero, pulmón o esófago; un adenoma tubulovelloso de colon; un tumor Muleriano mixto maligno del endometrio; un carcinoma de células claras del riñón; un cáncer de pulmón; un cáncer de ovarios; un cáncer de testículos; un fibrosarcoma de tejidos blandos; un teratoma; o un cáncer trofoblástico.
- 60 12. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el cáncer es cáncer renal, de próstata, de mama, de ovarios o colorrectal.
- 65

13. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de un vector de poxvirus.
- 5 14. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de un vector viral que expresa 5T4.
15. El método de acuerdo con la reivindicación 14 en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de un vector viral de Vaccinia Ankara Modificado que expresa 5T4.
- 10 16. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el tratamiento de inmunoterapia comprende el uso de un vector viral de Vaccinia Ankara Modificado que expresa el gen 5T4 humano bajo el control regulador de un promotor de mH5.

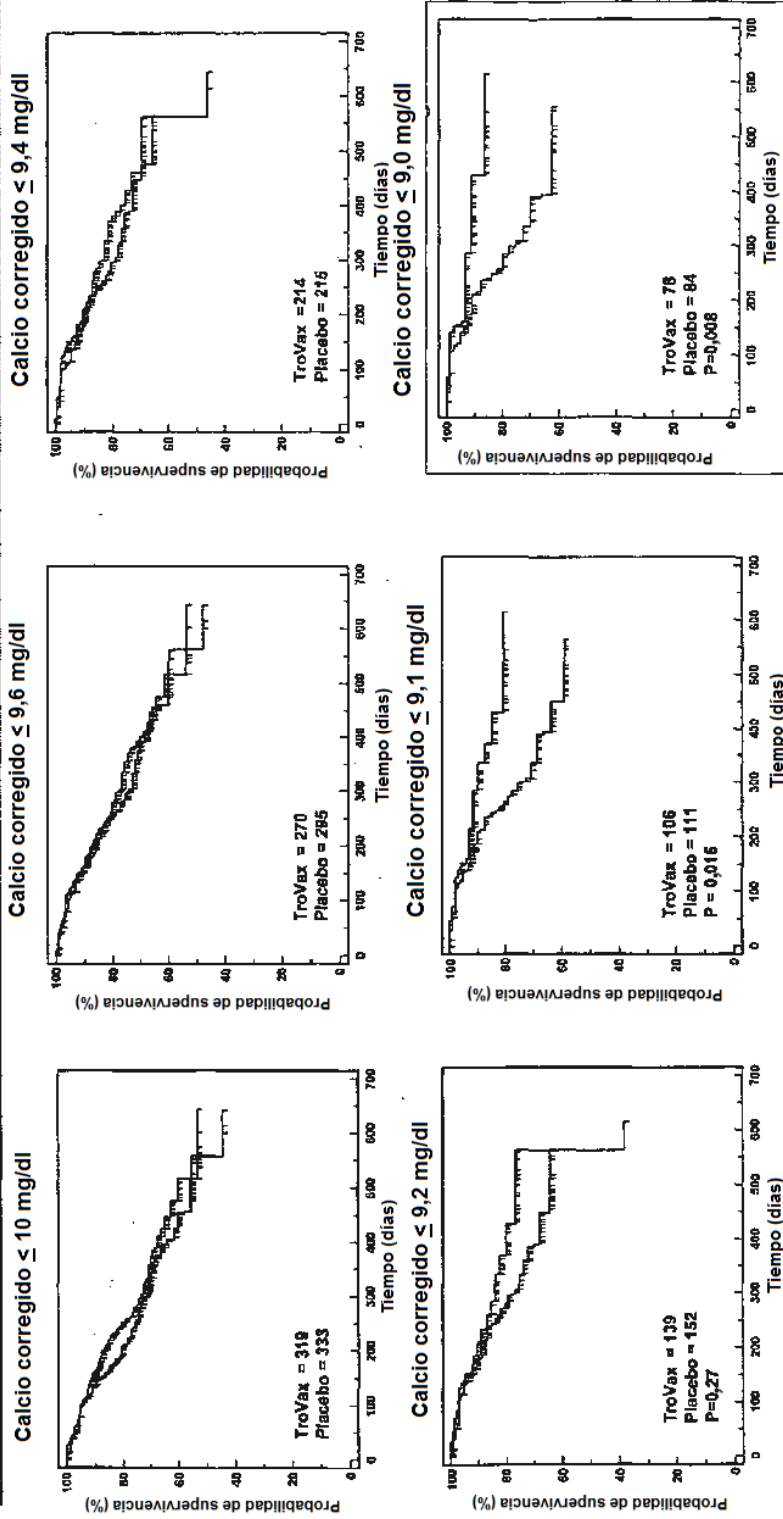
**Fig. 1: Análisis de supervivencia TRIST\***  
**Efecto del calcio corregido inicial en la supervivencia del paciente**



\* Corte de supervivencia a 11 de agosto de 2008



**Fig. 2: Análisis de supervivencia TRIST\***  
**Efecto del calcio corregido inicial en la supervivencia del paciente**

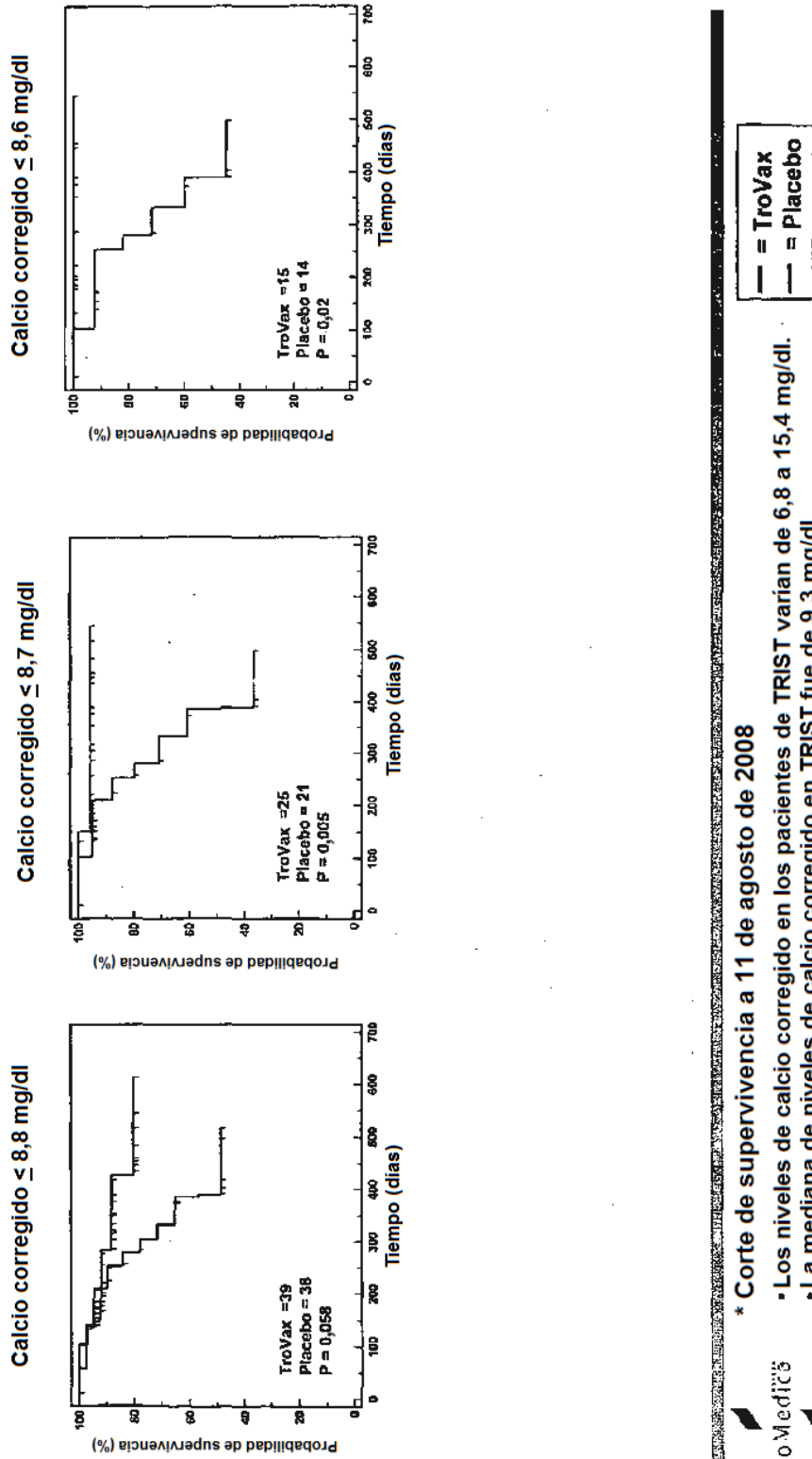


— = TroVax  
 - - - = Placebo

\* Corte de supervivencia a 11 de agosto de 2008

- Los niveles de calcio corregido en los pacientes de TRIST varían de 6,8 a 15,4 mg/dl.
- La mediana de niveles de calcio corregido en TRIST fue de 9,3 mg/dl

**Fig. 3: Análisis de supervivencia TRIST\***  
**Efecto del calcio corregido inicial en la supervivencia del paciente**

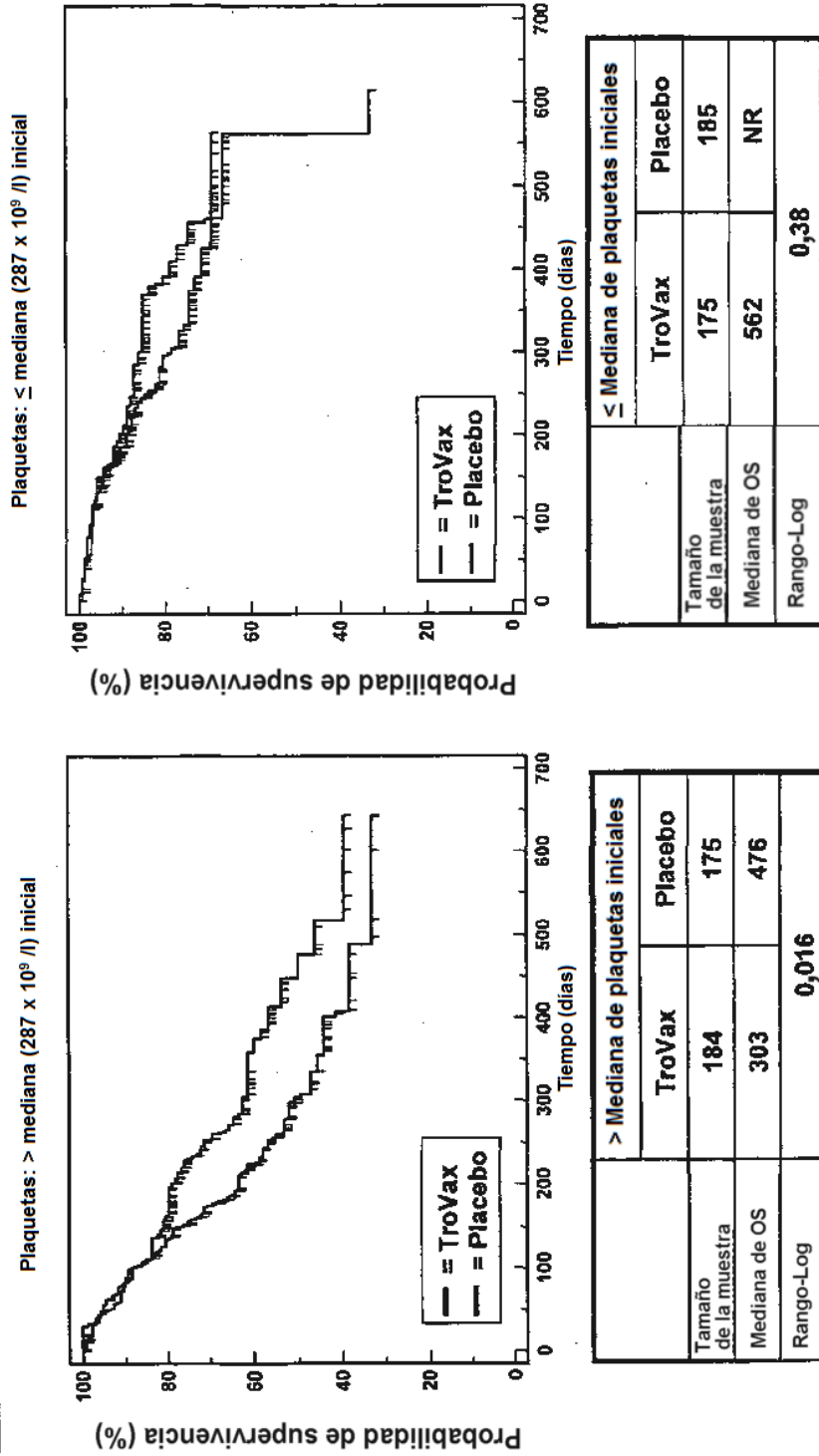


\* Corte de supervivencia a 11 de agosto de 2008

- Los niveles de calcio corregido en los pacientes de TRIST varían de 6,8 a 15,4 mg/dl.
- La mediana de niveles de calcio corregido en TRIST fue de 9,3 mg/dl

bioMedic's

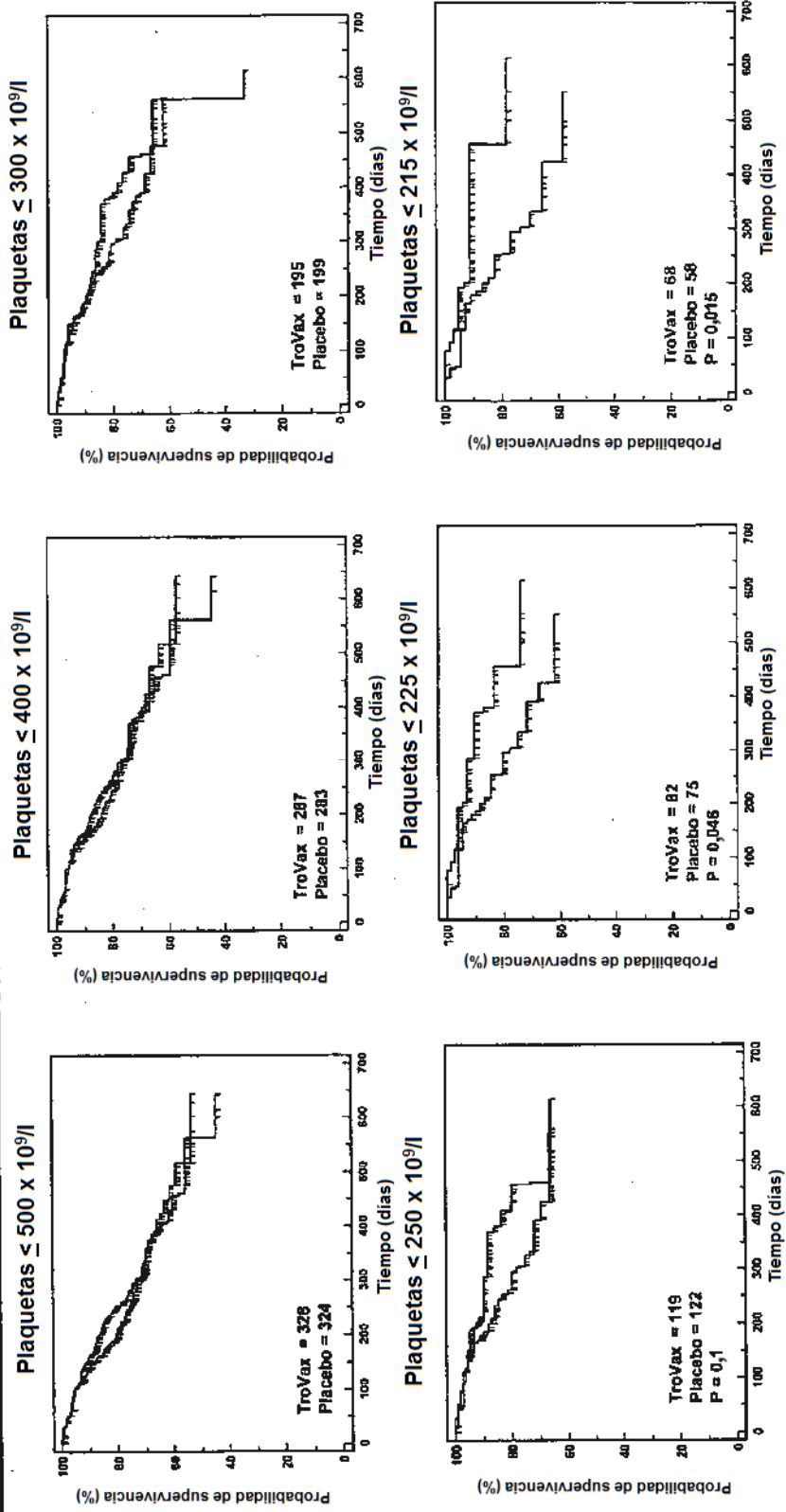
**Fig. 4: Análisis de supervivencia TRIST\***  
**Efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente**



\* Corte de supervivencia a 11 de agosto de 2008



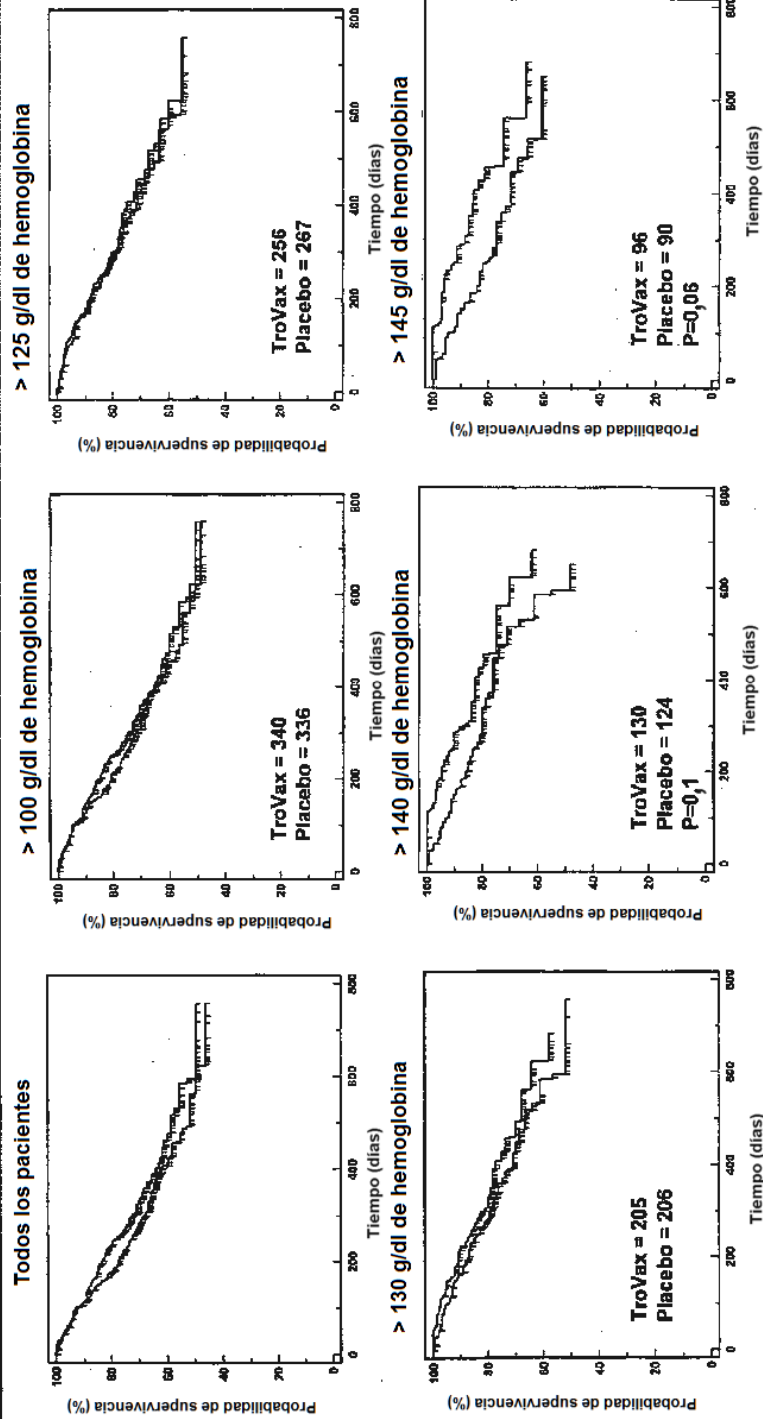
**Fig. 5: Análisis de supervivencia TRIST\***  
**Efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente**



Los niveles de plaquetas en los pacientes de TRIST varían de 114 a 1074 x 10<sup>9</sup>/l  
 La mediana de niveles de plaquetas en los pacientes de TRIST es 281 x 10<sup>9</sup>/l  
 Los niveles de plaquetas normales se citan como 130 - 400 x 10<sup>9</sup>/l

— = TroVax  
 - - - = Placebo

**Fig. 6: Análisis de supervivencia TRIST\***  
 Efecto de la hemoglobina en la supervivencia de los pacientes tratados con TroVax y placebo



\* Datos de supervivencia a diciembre de 2008

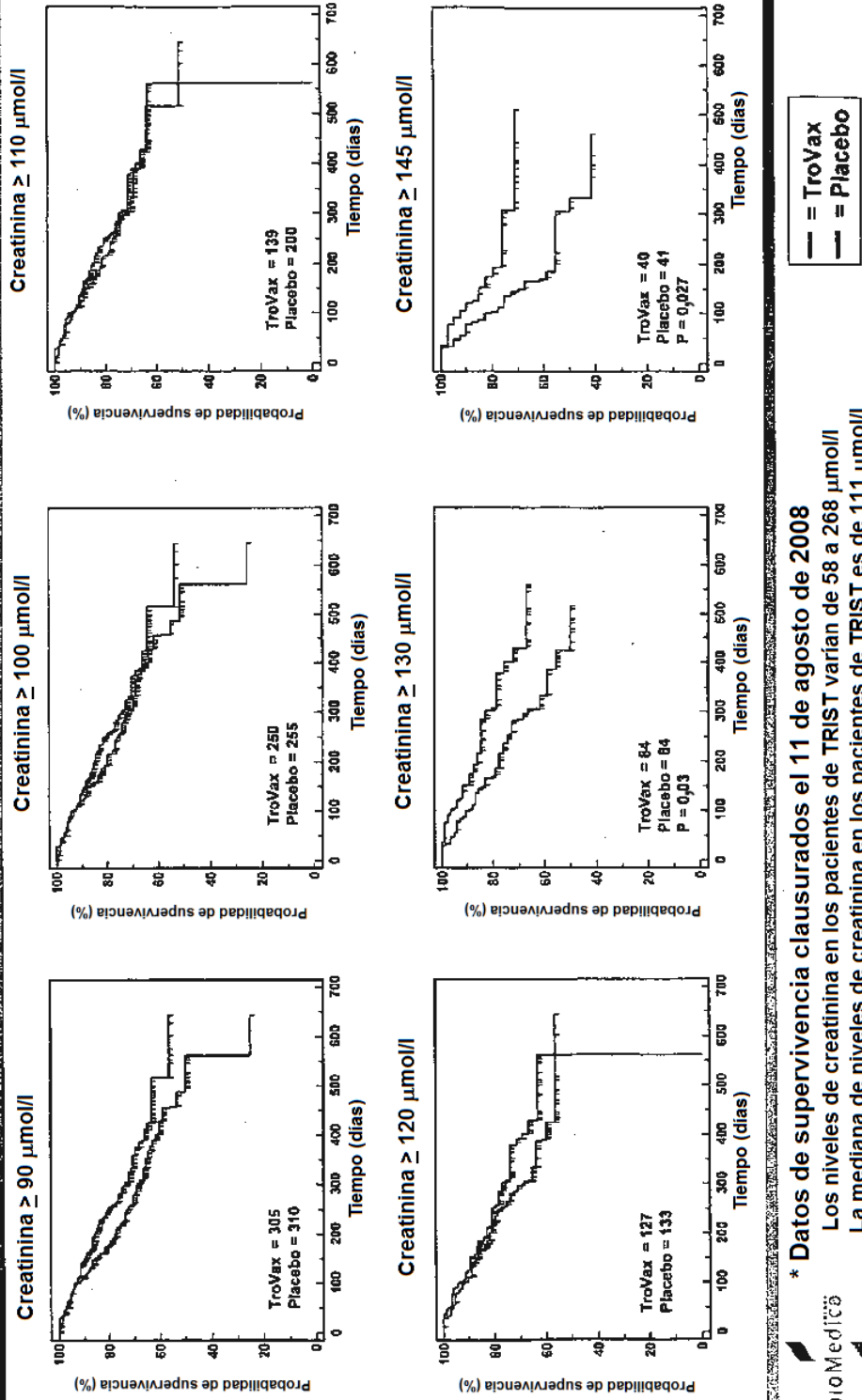
— = TroVax  
 - - = Placebo

bioMedica

Los niveles de hemoglobina en los pacientes de TRIST varían de 65 a 190 g/dl  
 La mediana de niveles de hemoglobina en los pacientes de TRIST es de 132 g/dl  
 Los niveles de hemoglobina normales se citan como aproximadamente 118 a 168 g/dl



**Fig. 7: Análisis de supervivencia TRIST\***  
 Efecto de la creatinina inicial en la supervivencia de los pacientes tratados con TroVax y placebo

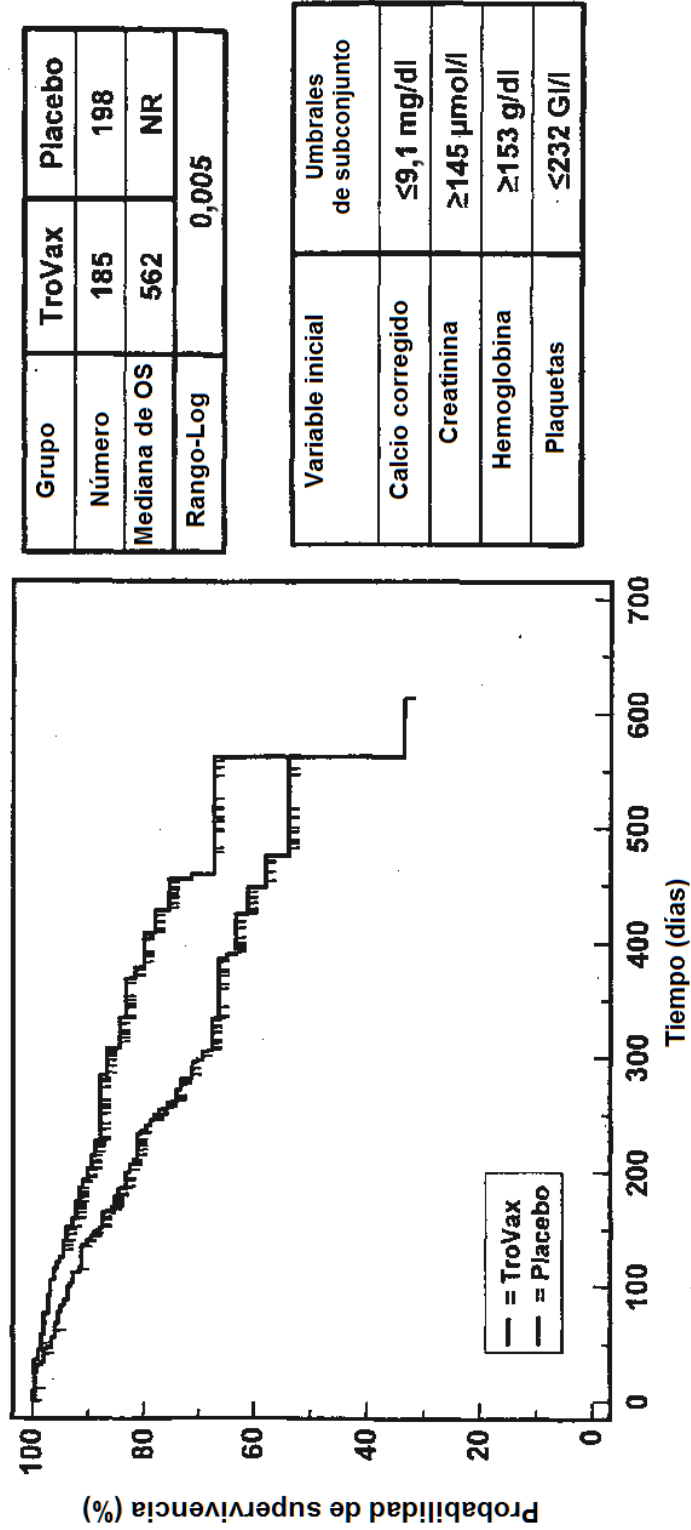


\* Datos de supervivencia clausurados el 11 de agosto de 2008

- Los niveles de creatinina en los pacientes de TRIST varían de 58 a 268 µmol/l
- La mediana de niveles de creatinina en los pacientes de TRIST es de 111 µmol/l
- Los niveles de creatinina normal se citan como 44 - 124 µmol/l

bioMedicó

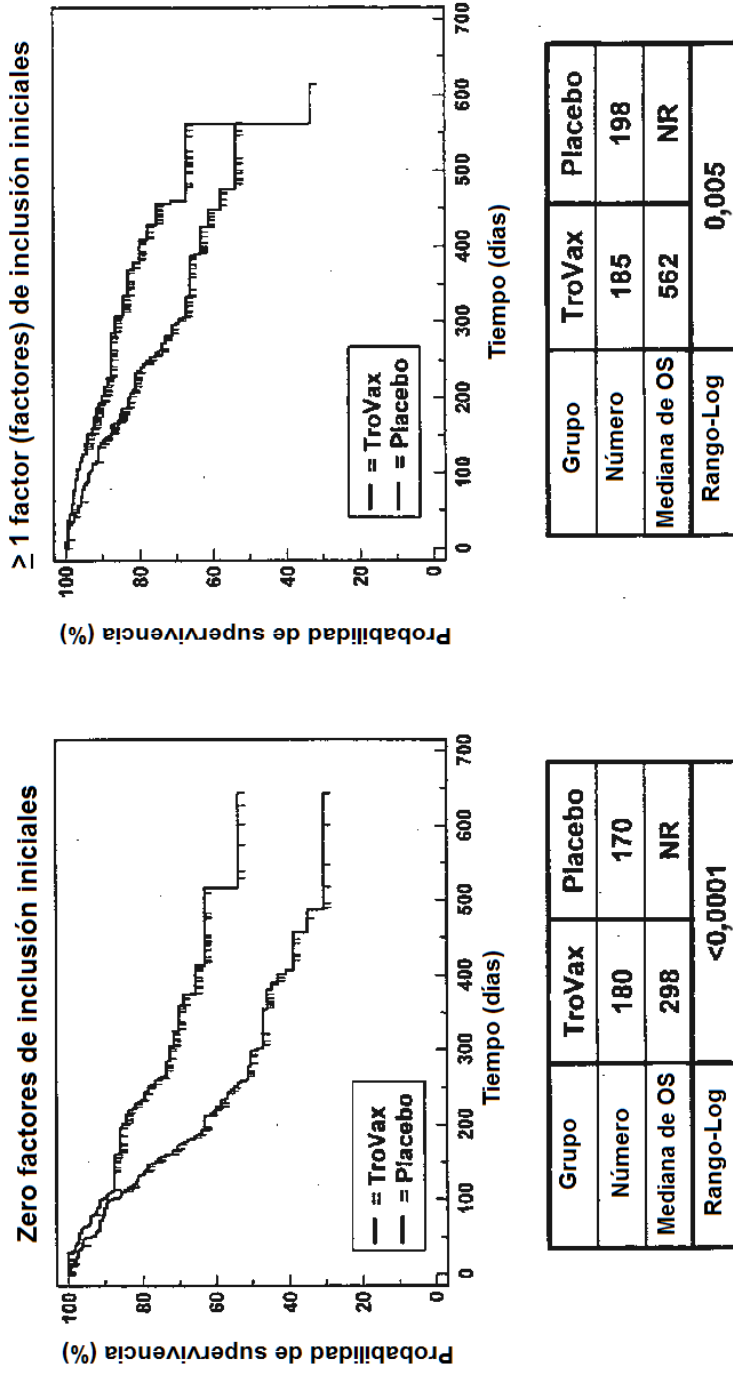
**Fig. 8: Análisis de supervivencia TRIST\***  
 Efecto del calcio, creatinina, hemoglobina y plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente



\* Datos de supervivencia clausurados el 11 de agosto de 2008

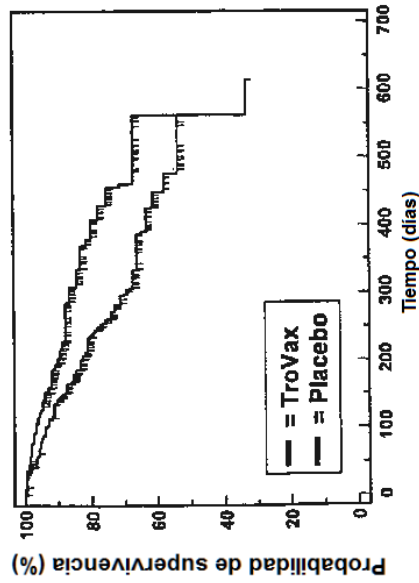


**Fig. 9: Análisis de supervivencia TRIST\***  
 Efecto del calcio, creatinina, hemoglobina y plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente



\* Datos de supervivencia clausurados el 11 de agosto de 2008

**Fig. 10: Análisis de supervivencia TRIST\***  
 Efecto del calcio, creatinina, hemoglobina y plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente



Variables Iniciales Favorables	Placebo	TroVax
Una	135	112
Dos	38	45
Tres	10	15
Cuatro	1	1

Variables iniciales favorables	Placebo (N°)	TroVax (N°)
Ca	65	48
Cr	19	17
Hb	11	13
PI	40	34
Ca / Cr	10	5
Ca / Hb	3	7
Ca / PI	23	31
Cr / Hb	2	2
Cr / PI	2	7
Hb / PI	12	5
Ca / Cr / Hb	1	0
Ca / Cr / PI	4	4
Ca / Hb / PI	4	10
Cr / Hb / PI	1	1
Ca / Cr / Hb / PI	1	1

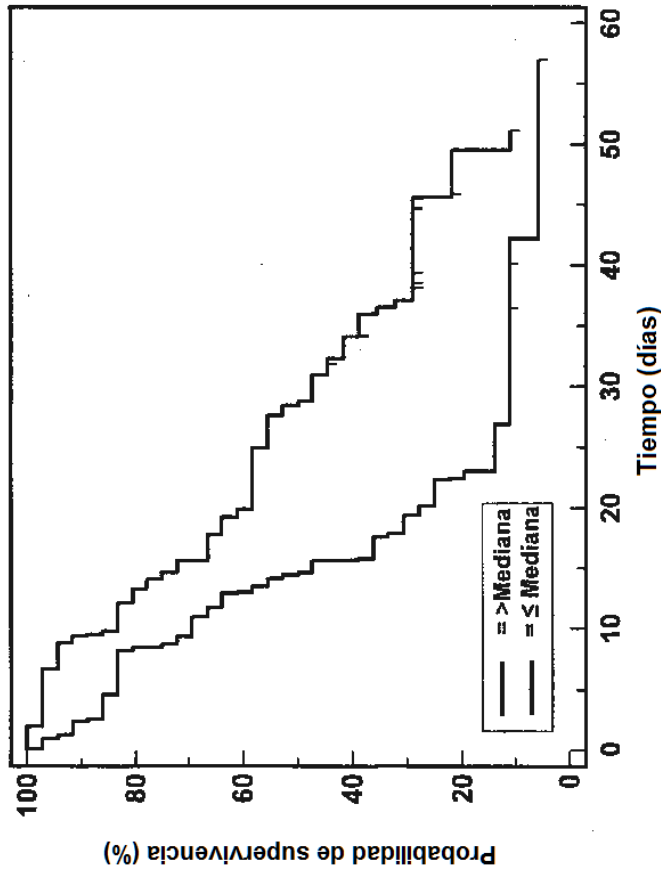
\* Datos de supervivencia clausurados el 11 de agosto de 2008



Clave: Ca = calcio corregido; Cr = creatinina; Hb = hemoglobina; PI = plaquetas

**Fig. 11: Análisis de supervivencia de fase II (Pacientes de CRC; 4 ensayos)  
Efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente**

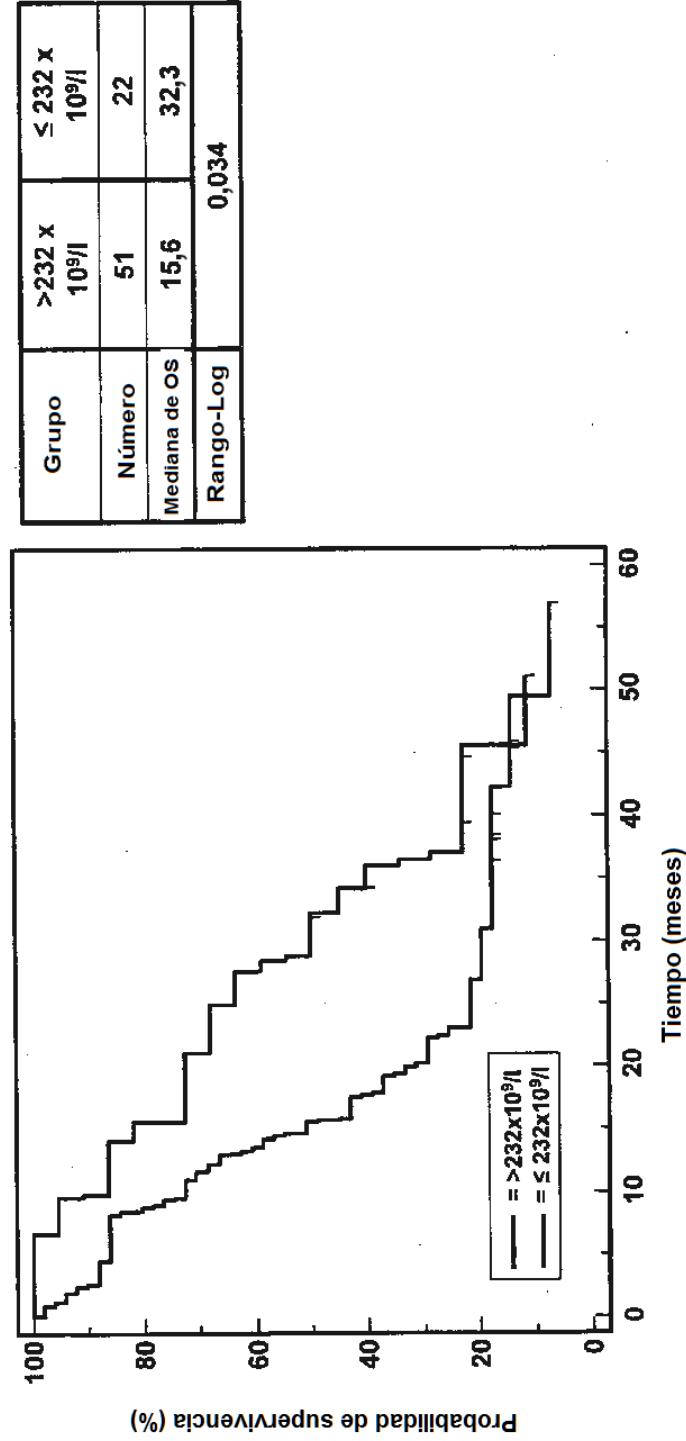
Grupo	> Mediana >275,5 x 10 <sup>9</sup> /l	≤ Mediana ≤275,5 x 10 <sup>9</sup> /l
Número	36	36
Mediana de OS	14,5	28,4
Rango-Log	0,0019	



La mediana de niveles de plaquetas en los pacientes de CRC de fase II es de 275,5 x 10<sup>9</sup>/l  
 La mediana de niveles de plaquetas en los pacientes de CRC es de 281 x 10<sup>9</sup>/l  
 Los niveles de plaquetas normales se citan como 130 - 400 x 10<sup>9</sup>/l

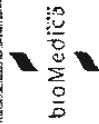
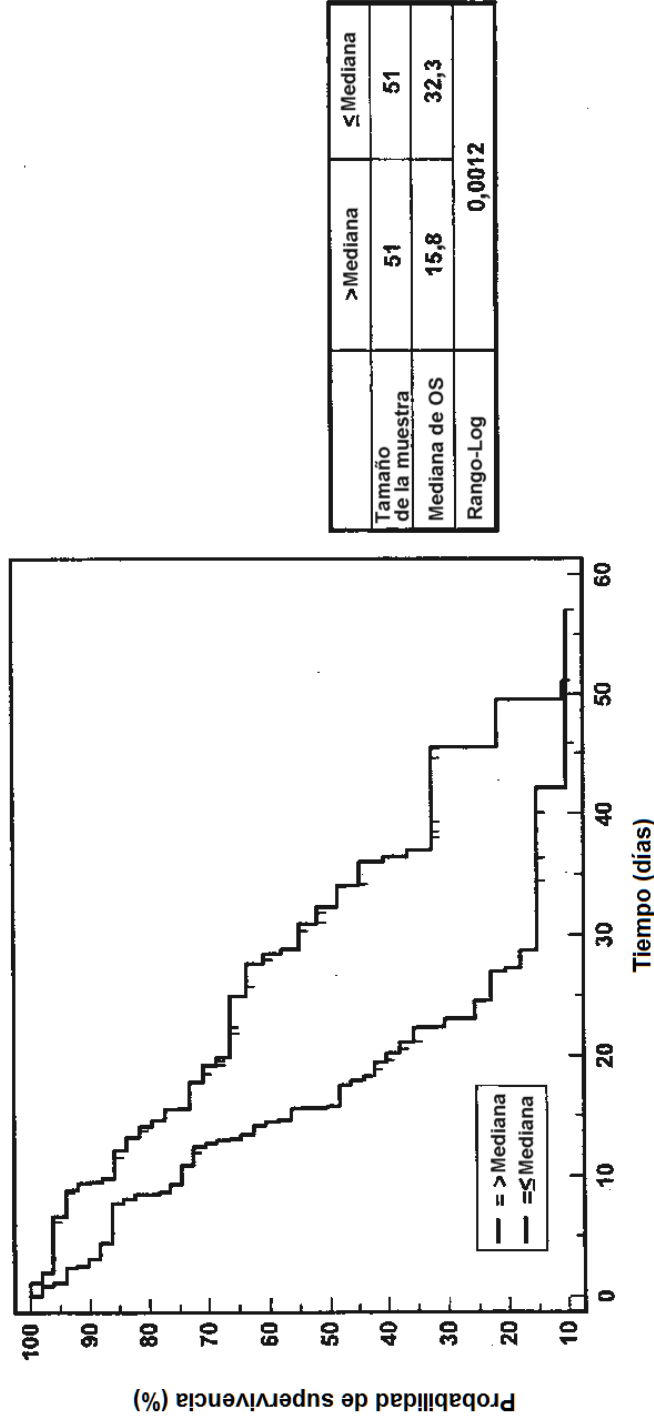


**Fig. 12: Análisis de supervivencia de fase II (Pacientes de CRC; 4 ensayos)  
Efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente**



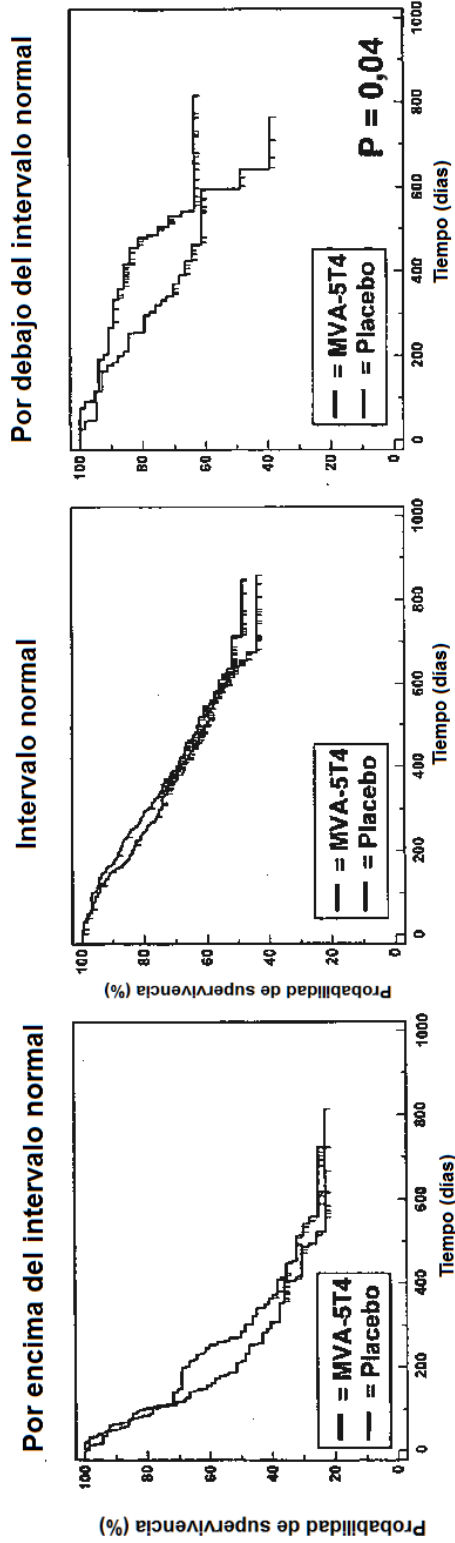
La mediana de niveles de plaquetas en los pacientes de CRC de fase II es de 275,5 x 10<sup>9</sup>/l  
 La mediana de niveles de plaquetas en los pacientes de TRIST es de 281 x 10<sup>9</sup>/l  
 Los niveles de plaquetas normales se citan como 130 - 400 x 10<sup>9</sup>/l

**Fig. 13: Análisis de supervivencia de fase II (4 ensayos x CRC, 2 ensayos x CCR) Efecto de las plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente**



La mediana de niveles de plaquetas en los pacientes de CRC y CCR de fase II son  $275,5 \times 10^9/l$   
 La mediana de niveles de plaquetas en los pacientes de TRIST es de  $281 \times 10^9/l$   
 Los niveles de plaquetas normales se citan como  $130 - 400 \times 10^9/l$

**Fig. 14: Análisis exploratorios de TRIST**  
 Influencia de los niveles de plaquetas iniciales en la supervivencia del paciente

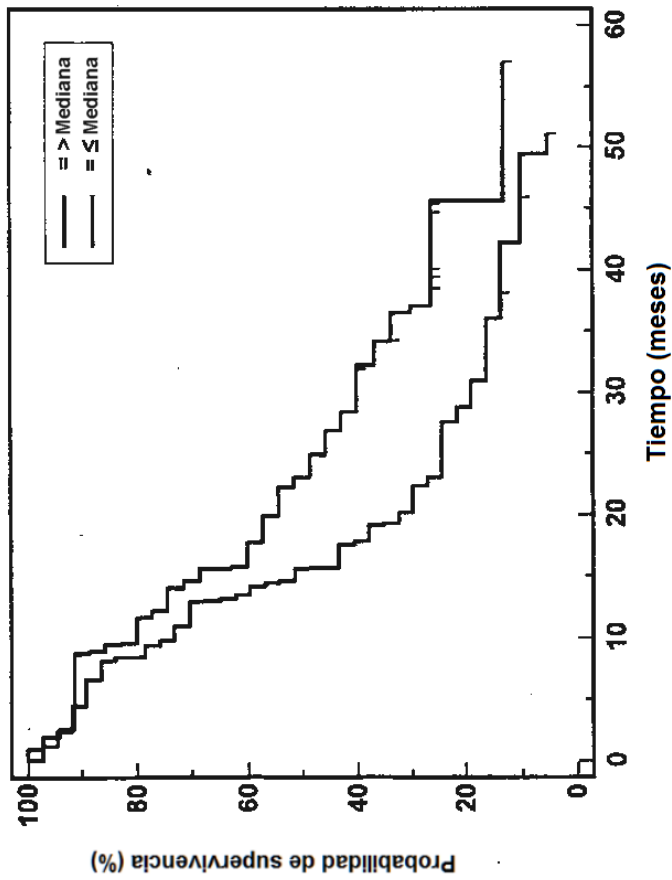


- Los niveles de plaquetas iniciales inferiores con una supervivencia mejorada en favor de MVA-5T4 frente a placebo



**Fig. 15: Análisis de supervivencia de fase II (Pacientes de CRC; 4 ensayos)  
Efecto de la hemoglobina inicial en la supervivencia de pacientes**

Grupo	> Mediana (>129g/dl)	≤ Mediana (≤129g/dl)
Número	35	37
Mediana de OS	23	15,6
Rango-Log	0,058	

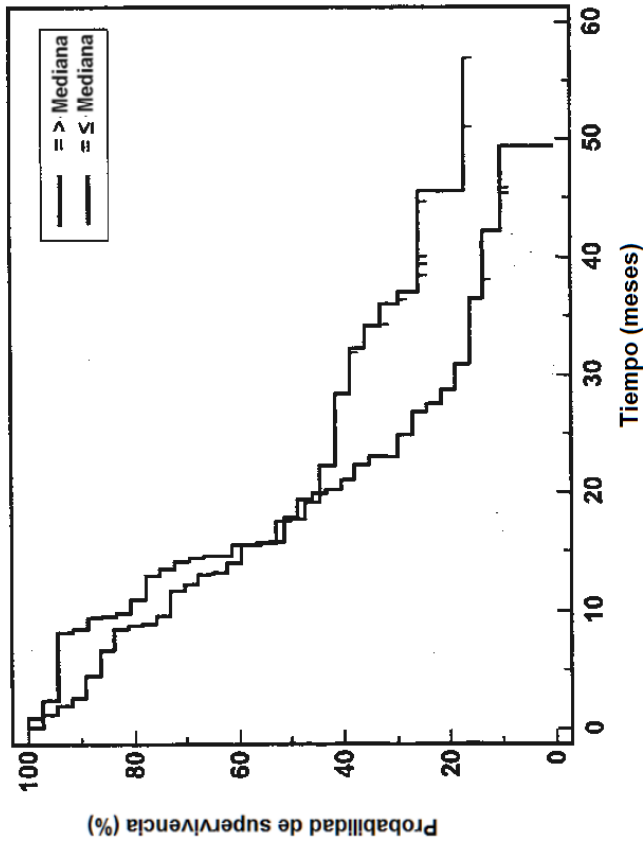


La mediana de niveles de hemoglobina en los pacientes de CRC de fase II es de 129 g/dl  
 La mediana de niveles de hemoglobina en los pacientes de TRIST es de 132 g/dl  
 Los niveles de hemoglobina normales se citan como aproximadamente 110 a 168 g/dl

bioMedic

**Fig. 16: Análisis de supervivencia de fase II (Pacientes de CRC; 4 ensayos)  
Efecto de creatinina inicial en la supervivencia de pacientes**

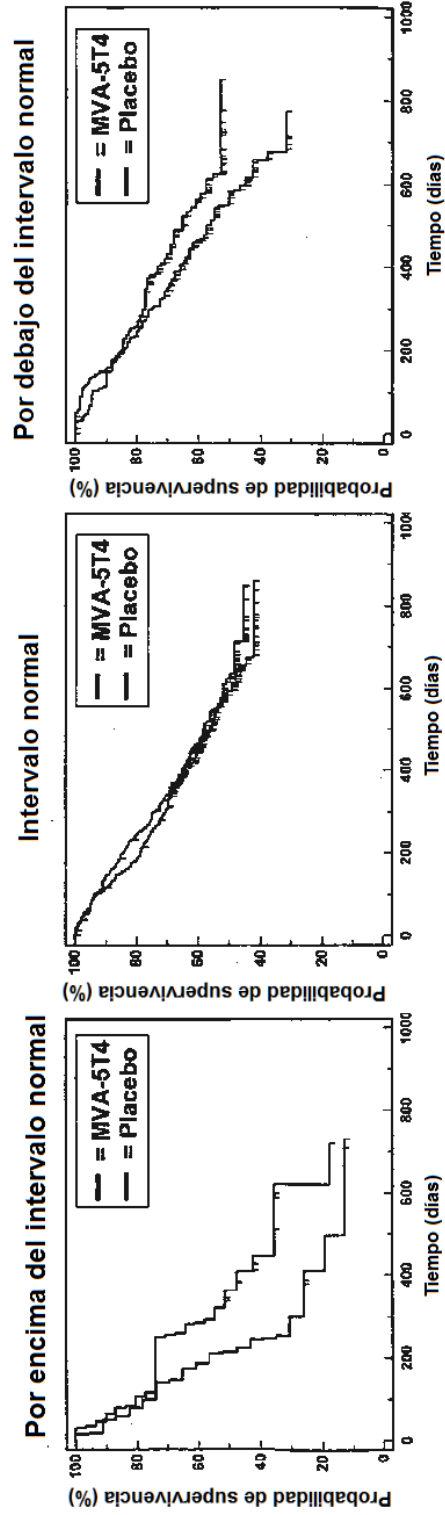
Grupo	> Mediana (>90µmol/l)	≤ Mediana (≤90 µmol/l)
Número	36	37
Mediana de OS	17,6	17,9
Rango-Log	0,14	



La mediana de niveles de creatinina en los pacientes de CRC de fase II es de 90 µmol/l  
 La mediana de niveles de creatinina en los pacientes de TRIST es de 111 µmol/l  
 Los niveles de creatinina normales se citan como aproximadamente 44 a 124 µmol/l

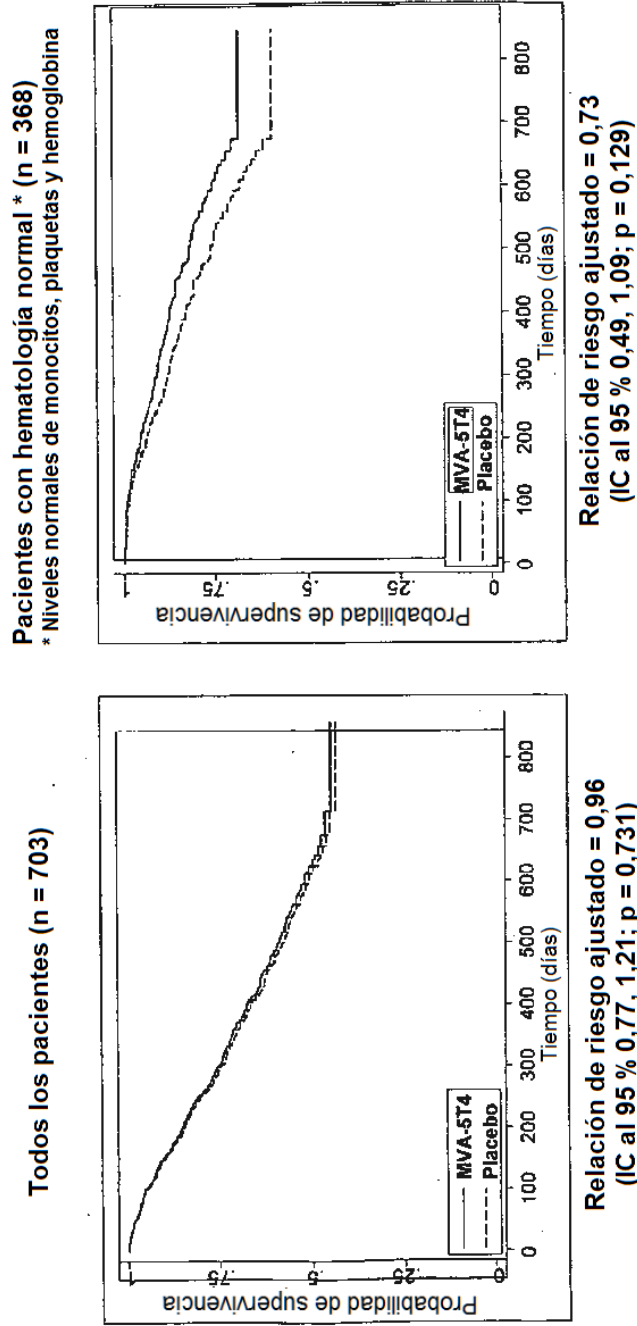
bioMedicó

**Fig. 17: Análisis exploratorio de TRIST**  
**Influencia de los niveles de monocitos iniciales en la supervivencia del paciente**



- Los niveles de monocito iniciales inferiores se asocian con una supervivencia mejorada en favor de MVA-5T4 frente a placebo

**Fig. 18: Análisis exploratorio de TRIST**  
 Los pacientes con hematología normal muestran una tendencia de beneficio de supervivencia



- Los niveles iniciales "normales" de monocitos, plaquetas y hemoglobina asociados con una relación de riesgo reducida en favor de MVA-5T4



FIGURA 19

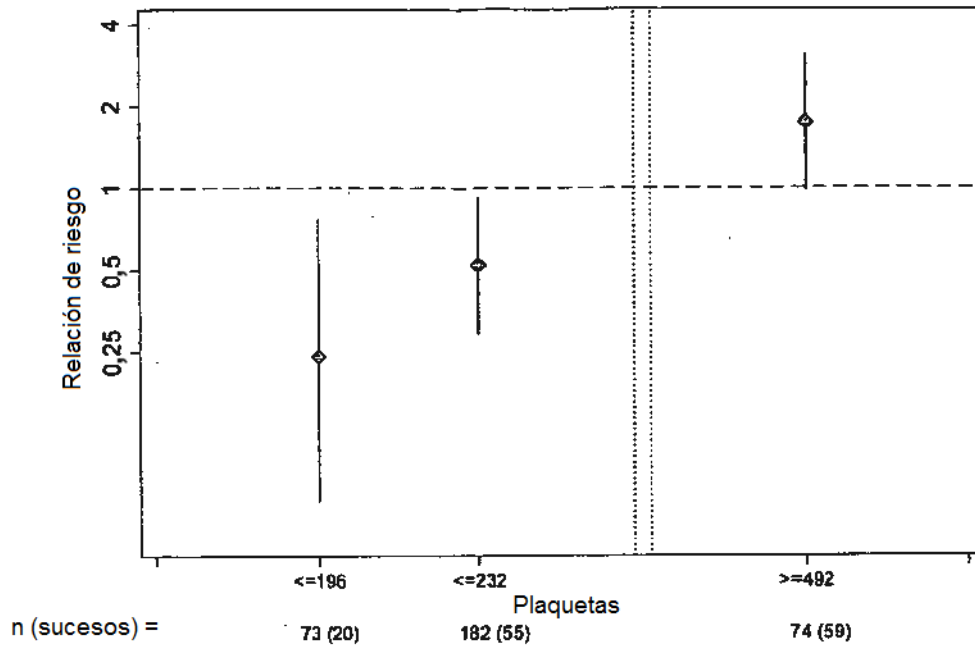


FIGURA 20

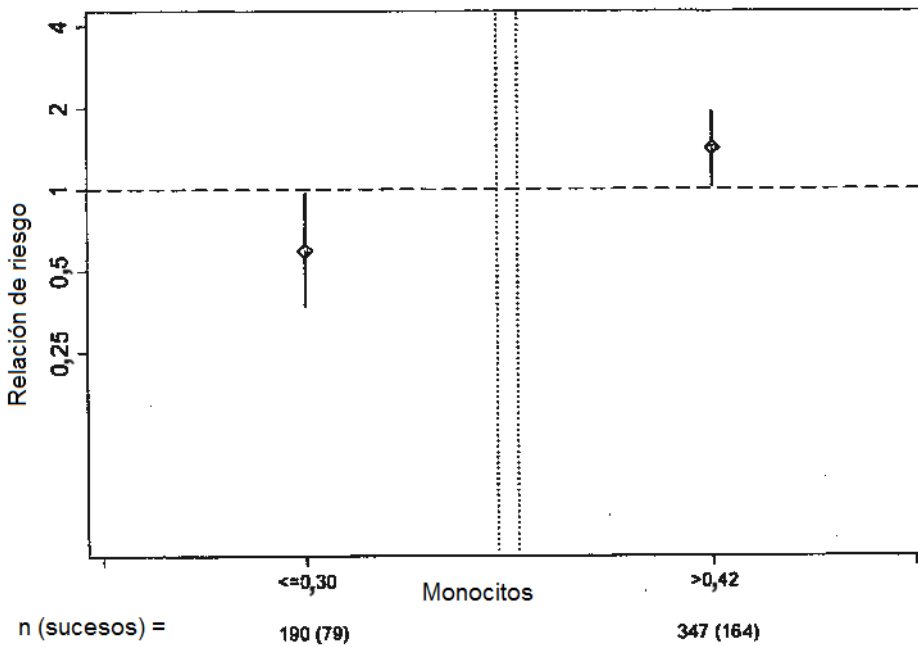


FIGURA 21

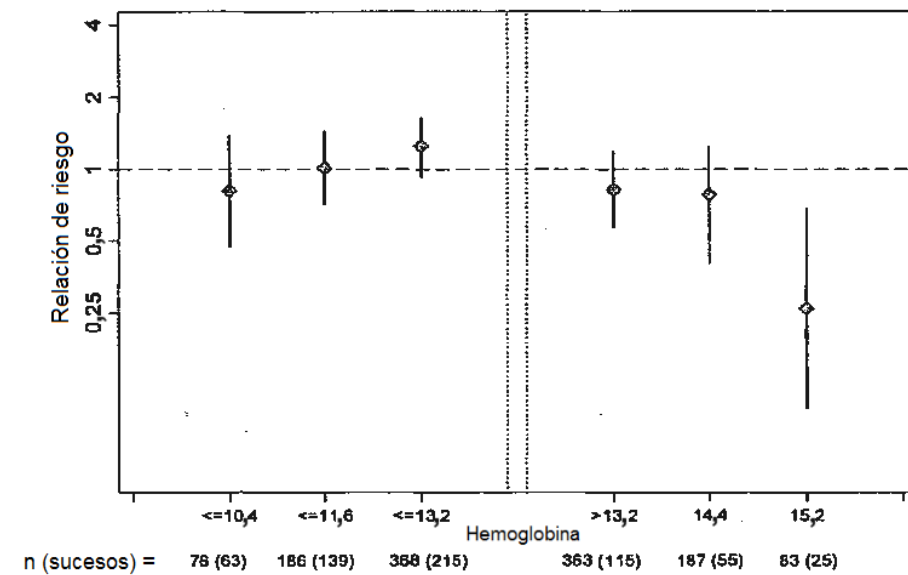
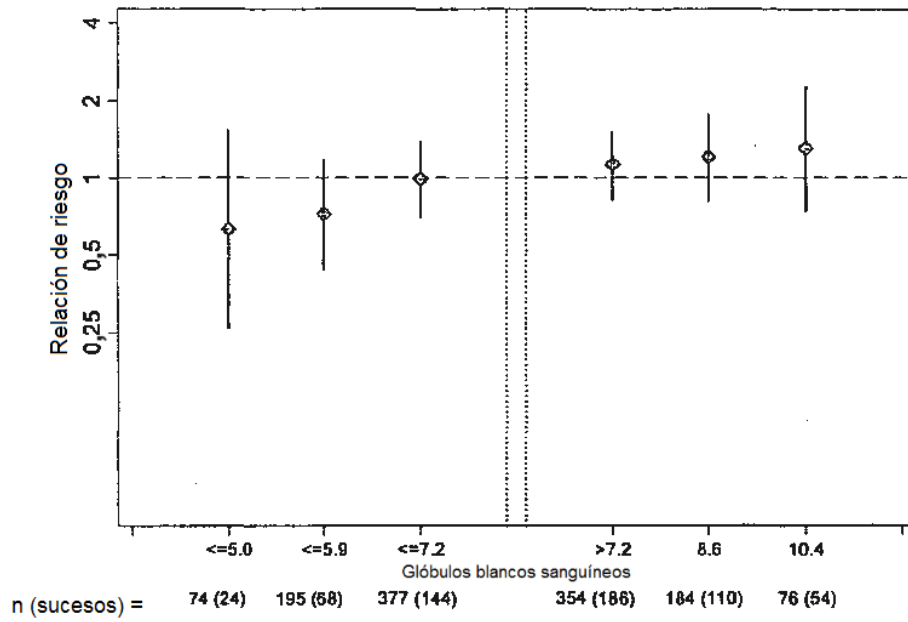


FIGURA 22