

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 602 977**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

C07K 14/52 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/785 (2006.01)

A61K 38/07 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.10.2011 PCT/US2011/055588**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2012 WO12051106**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.10.2011 E 11833199 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.08.2016 EP 2627669**

54 Título: **Biomarcadores de citocinas como biomarcadores predictivos de la respuesta clínica para acetato de glatirámero**

30 Prioridad:

11.10.2010 US 391968 P

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

23.02.2017

73 Titular/es:

**TEVA PHARMACEUTICAL INDUSTRIES LTD.
(100.0%)
5 Basel Street, P.O. Box 3190
49131 Petah Tiqva, IL**

72 Inventor/es:

**KASPER, LLOYD, H. y
SMITH, JACQUELINE, Y.**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 602 977 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

Biomarcadores de citocinas como biomarcadores predictivos de la respuesta clínica para acetato de glatirámero.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmunitaria debilitante crónica del sistema nervioso central (SNC) con curso recidivante-remite (RR) o bien progresivo que da lugar a discapacidad y deterioro neurológicos. En el momento del diagnóstico inicial, la EMRR es la forma más común de la enfermedad (1) que se caracteriza por episodios agudos impredecibles de disfunción neurológica (recidivas), seguido de recuperación variable y periodos de estabilidad clínica. La gran mayoría de pacientes con EMRR desarrollan finalmente la enfermedad progresiva secundaria (PS) con o sin recidivas superpuestas. Alrededor de un 15 % de los pacientes desarrollan un deterioro continuo de su función neurológica desde el comienzo; esta forma se llama EM progresiva primaria (PP). Los 10 pacientes que han experimentado un acontecimiento clínico único (síndrome clínico aislado o "SCA") y muestran extensión de las lesiones en resonancia magnética nuclear (RMN) posterior de acuerdo con los criterios de McDonald también se considera que tienen EM recidivante. (2)

15 Con una prevalencia que varía considerablemente alrededor del mundo, la EM es la causa más común de discapacidad neurológica crónica en adultos jóvenes. (3, 4) Anderson *et al.* estimaron que en 1990 había aproximadamente 350.000 pacientes diagnosticados por un médico con EM en los Estados Unidos (aproximadamente 140 por 100.000 habitantes). (5)

20 Se estima que aproximadamente 2,5 millones de personas están afectadas a nivel mundial. (6) En general, ha habido una tendencia hacia una incidencia y prevalencia en incremento de la EM a nivel mundial, pero las razones para esta tendencia no se comprenden completamente. (5)

25 Los enfoques terapéuticos actuales consisten en i) tratamiento sintomático ii) tratamiento de recidivas agudas con corticoesteroides y iii) tratamiento dirigido a modificar el curso de la enfermedad. Los tratamientos aprobados actualmente se centran en los procesos inflamatorios de la enfermedad. Se considera que la mayoría de ellos actúa como inmunomoduladores, pero sus mecanismos de acción no se han aclarado completamente. También se usan inmunodepresores o agentes citotóxicos en algunos pacientes tras el fracaso de los tratamientos convencionales. Se han aprobado y clínicamente verificado varios medicamentos como eficaces para el tratamiento de la EM-RR; incluyendo BETASERON®, AVONEX® y REBIF®, que son derivados de la citocina interferón beta (IFNB), cuyo mecanismo de acción en la EM se atribuye generalmente a sus efectos inmunomoduladores, antagonizando reacciones proinflamatorias e induciendo células supresoras. (7) Otros fármacos aprobados para el tratamiento de la EM incluyen mitoxantrona y natalizumab. 30

Acetato de glatirámero

35 El acetato de glatirámero (AG) es la sustancia activa de Copaxone®, un producto comercializado indicado para la reducción de la frecuencia de las recidivas en pacientes con EMRR. Su eficacia en la reducción de la tasa de recidivas y acumulación de discapacidad en la EM-RR es comparable con la de otros tratamientos inmunomoduladores disponibles. (8, 9, 10) El acetato de glatirámero consiste en las sales de acetato de polipéptidos sintéticos que contienen cuatro aminoácidos naturales: ácido L-glutámico, L-alanina, L-tirosina y L-lisina. El peso molecular promedio del acetato de glatirámero es de entre 5000 y 9000 Daltons. A una dosis estándar diaria de 20 mg, el AG generalmente se tolera bien, sin embargo, la respuesta al fármaco es variable. En diversos ensayos clínicos, el AG redujo las tasas de recidivas y la evolución de la discapacidad en pacientes con EM-RR. El efecto terapéutico del AG se apoya en los resultados de los hallazgos de resonancia magnética nuclear (RMN) de diversos centros clínicos (11), sin embargo, no existen biomarcadores predictivos validados de la respuesta al tratamiento con AG. 40

45 Un posible modo inicial de acción del AG se asocia con la unión a moléculas del MHC y la consecuente competición con diversos antígenos de mielina para su presentación a los linfocitos T. (12) Un aspecto adicional de su modo de acción es la potente inducción de células de tipo linfocito T cooperador 2 (Th2), que presuntamente pueden migrar al cerebro y dar lugar a la supresión inespecífica *in situ*. (13) Se ha demostrado que el tratamiento con AG en la EM da como resultado la inducción de linfocitos T específicos para AG con fenotipo Th2 predominante, tanto en respuesta al AG como a antígenos de mielina de reacción cruzada. (13, 14) Además, la capacidad de las células infiltrantes específicas para AG para expresar citocinas antiinflamatorias, tales como IL-10, y el factor de crecimiento y transformación beta (TGF-β) junto con el factor neurotrófico derivado del cerebro (FNDC) parecen correlacionarse con la actividad terapéutica del AG en EAE. (15, 16, 17) 50

55 La experiencia clínica con AG consiste en la información obtenida de ensayos clínicos completados y en curso y en la experiencia de poscomercialización. El programa clínico incluye tres estudios con enmascaramiento doble controlados con placebo en sujetos con EMRR tratados con 20 mg/día de AG. (18, 19, 20) Se observó una reducción significativa en el número de recidivas en comparación con el placebo. En el estudio controlado más grande, la tasa de recidivas se redujo en un 32 % de 1,98 con placebo a 1,34 con 20 mg de AG. 20 mg de AG también han demostrado efectos beneficiosos frente al placebo en parámetros de RMN pertinentes para la EMRR. Se demostró un efecto significativo en la mediana del número acumulativo de lesiones potenciadas por Gd durante

9 meses de tratamiento (11 lesiones en el grupo de 20 mg en comparación con 17 lesiones con placebo).

El programa clínico con AG también incluye un estudio con enmascaramiento doble en sujetos con EM crónica-progresiva, (21) un estudio con enmascaramiento doble controlado con placebo en pacientes con enfermedad progresiva primaria, (22) un estudio con enmascaramiento doble controlado con placebo en pacientes con SCA (23) y numerosos estudios en abierto y de uso compasivo, la mayoría en EMRR. Se ha revisado extensamente el uso clínico del AG y ha sido publicado en la literatura actual (24, 25, 26, 27).

Una importante herramienta para la gestión terapéutica de aquellos con EM recidivante es la capacidad de determinar la probabilidad de éxito del tratamiento. La identificación de aquellas personas que responden al AG ha sido elusiva. A medida que se incrementan las opciones terapéuticas para la EM, la importancia de poder determinar quién responde favorablemente al tratamiento y, específicamente, al AG, se ha vuelto de importancia en incremento.

Valenzuela RM *et al* (Neurology 2010 74 9 (Suppl 2) A166 and Multiple Sclerosis 2007 13 754-762) divulgan el análisis de patrones de expresión de citocinas en CMSP en respuesta al acetato de glatirámero.

Farina C *et al.* (J Neurol 2002 249 1587-1592) describen un ensayo de citocinas para definir una respuesta inmunológica al acetato de glatirámero.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona un procedimiento de predicción del grado de respuesta clínico al tratamiento con acetato de glatirámero en un sujeto humano aquejado de esclerosis múltiple o un ataque clínico único consistente con esclerosis múltiple, comprendiendo el procedimiento evaluar la concentración de IL-17, en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto, e identificar al sujeto como un paciente que responde al acetato de glatirámero mediante las etapas que comprenden,

- (i) purificar las CMSP de la sangre del sujeto y después crioconservar las CMSP;
- (ii) descongelar y después cultivar las CMSP crioconservadas durante la noche en medio de cultivo enriquecido con suero humano al 5 %;
- (iii) estimular 40.000 de dichas CMSP cultivadas con 1 mg/ml de PMA y 5 mg/ml de ionomicina en un volumen final de 200 microlitros durante 6 horas; e
- (iv) identificar al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero si la concentración de IL-17 del sobrenadante de las CMSP tras la etapa (iii) es mayor que o igual a 120 pg/ml, prediciendo así el grado de respuesta clínico al acetato de glatirámero.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de un sujeto humano aquejado de esclerosis múltiple o un ataque clínico único consistente con esclerosis múltiple, en la que el sujeto humano es un paciente sin tratamiento previo o se le ha administrado previamente un fármaco para la esclerosis múltiple distinto de acetato de glatirámero, y en la que se identifica al sujeto como un paciente que responde al acetato de glatirámero basándose en la concentración de IL-17 en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto, lográndose esta identificación mediante las etapas que comprenden,

- (i) purificar las CMSP de la sangre del sujeto y después crioconservar las CMSP;
- (ii) descongelar y después cultivar las CMSP crioconservadas durante la noche en medio de cultivo enriquecido con suero humano al 5 %;
- (iii) estimular 40.000 de dichas CMSP cultivadas con 1 mg/ml de PMA y 5 mg/ml de ionomicina en un volumen final de 200 microlitros durante 6 horas; e
- (iv) identificar al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero si la concentración de IL-17 del sobrenadante de las CMSP tras la etapa (iii) es mayor que o igual a 120 pg/ml.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1A: Línea temporal que muestra la puntuación en la EAED de los pacientes que responden con tratamiento con AG.

Figura 1B: Línea temporal que muestra la puntuación en la EAED de los pacientes que no responden con tratamiento con AG.

Figura 2A: Niveles de citocinas secretadas por las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de pacientes que responden en el punto de referencia y tras 2 meses de tratamiento con AG.

Figura 2B: Niveles de citocinas secretadas por las CMSP de pacientes que no responden en el punto de referencia y

tras 2 meses de tratamiento con AG.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 5 Esta divulgación proporciona un procedimiento para tratar a un sujeto humano aquejado de esclerosis múltiple o un ataque clínico único consistente con esclerosis múltiple con una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable, que comprende las etapas de determinar si el sujeto humano es un paciente que responde al acetato de glatirámero evaluando la concentración de IL-17, en la sangre del sujeto humano, y administrar la composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable al sujeto humano únicamente si se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero.
- 10 En un modo de realización, la administración de la composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable comprende administrar al sujeto humano tres inyecciones subcutáneas de la composición farmacéutica durante un periodo de siete días con al menos un día entre cada inyección subcutánea.
- 15 En un modo de realización, la composición farmacéutica es una dosis unitaria de una solución acuosa de 0,5 ml que comprende 20 mg de acetato de glatirámero.
- En un modo de realización, también se determina la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ , o la combinación de las mismas.
- 20 En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ , o la combinación de las mismas, se observa en el pretratamiento.
- En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de INF- γ , o la combinación de las mismas, se observa a los 2 meses tras la primera administración de acetato de glatirámero.
- 25 Si se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano la composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable como monoterapia.
- Si se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable, y luego también se administra al sujeto humano otro fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero. En un modo de realización adicional, el fármaco para la esclerosis múltiple se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.
- 30 Si no se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero.
- 35 Si no se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero, y luego no se administra al sujeto humano acetato de glatirámero.
- En un modo de realización, el fármaco para la esclerosis múltiple se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.
- 40 En un modo de realización, el biomarcador es la concentración de IL-17(A). Una concentración de IL-17(A) mayor que o igual a 120 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.
- Si se determina adicionalmente la concentración de TNF- α , una concentración de TNF- α mayor que o igual a 20000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.
- 45 Si se determina adicionalmente la concentración de IFN- γ , una concentración de IFN- γ mayor que o igual a 6000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.
- Si se determina adicionalmente la concentración de IL-2, una concentración de IL-2 mayor que o igual a 30000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.
- En un modo de realización, el sujeto humano es un paciente sin tratamiento previo.
- 50 En un modo de realización, se ha administrado previamente al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple distinto de acetato de glatirámero. En un modo de realización adicional, el fármaco para la esclerosis múltiple administrado previamente se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.

La presente invención proporciona un procedimiento de predicción del grado de respuesta clínico al tratamiento con acetato de glatirámero en un sujeto humano aquejado de esclerosis múltiple o un ataque clínico único consistente con esclerosis múltiple, comprendiendo el procedimiento evaluar la concentración de IL-17, como se describe anteriormente.

5 En un modo de realización, el tratamiento con acetato de glatirámero comprende administrar al sujeto humano tres inyecciones subcutáneas de una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable durante un periodo de siete días con al menos un día entre cada inyección subcutánea. En un modo de realización adicional, la composición farmacéutica es una dosis unitaria de una solución acuosa de 0,5 ml que comprende 20 mg de acetato de glatirámero.

10 En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ , o la combinación de las mismas, es una concentración en el sobrenadante de las CMSP.

En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ , o la combinación de las mismas, se observa en el
15 pretratamiento.

En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de INF- γ , o la combinación de las mismas, se observa a los 2 meses tras la primera administración de acetato de glatirámero.

20 Si se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano la composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable como monoterapia.

Si se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable, y luego también se administra al sujeto humano otro fármaco para la esclerosis
25 múltiple que no sea acetato de glatirámero. En un modo de realización adicional, el fármaco para la esclerosis múltiple se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.

Si no se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero.

30 Si no se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero, y luego no se administra al sujeto humano acetato de glatirámero.

En un modo de realización, el fármaco para la esclerosis múltiple se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.

35 En un modo de realización, el biomarcador es la concentración de IL-17(A). Una concentración de IL-17 o una concentración de IL-17(A) mayor que o igual a 120 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

Si se determina la concentración de TNF- α , una concentración de TNF- α mayor que o igual a 20000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

40 Si se determina la concentración de IFN- γ , una concentración de IFN- γ mayor que o igual a 6000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

Si se determina la concentración de IL-2, una concentración de IL-2 mayor que o igual a 30000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

En un modo de realización, el sujeto humano es un paciente sin tratamiento previo.

45 En un modo de realización, se ha administrado previamente al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple distinto de acetato de glatirámero. En un modo de realización adicional, el fármaco para la esclerosis múltiple administrado previamente se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.

También se describe un procedimiento para tratar a un sujeto humano aquejado de esclerosis múltiple o un ataque clínico único consistente con esclerosis múltiple que comprende las etapas de administrar al sujeto humano una cantidad terapéutica de una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable, determinar si el sujeto humano es un paciente que responde al acetato de glatirámero
50 evaluando la concentración de IL-17 como se describe anteriormente y opcionalmente la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ , o una combinación de las mismas, en la sangre del sujeto humano, y continuar la administración de la composición farmacéutica si se identifica al sujeto humano como un

paciente que responde al acetato de glatirámero o modificar la administración de la composición farmacéutica para el sujeto humano si no se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

5 En un modo de realización, la administración al sujeto humano de una cantidad terapéutica de una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable comprende administrar al sujeto humano tres inyecciones subcutáneas de la composición farmacéutica durante un periodo de siete días con al menos un día entre cada inyección subcutánea.

En un modo de realización, la composición farmacéutica es una dosis unitaria de una solución acuosa de 0,5 ml que comprende 20 mg de acetato de glatirámero.

10 En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ , o la combinación de las mismas, es una concentración en el sobrenadante de las CMSP.

En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ , o la combinación de las mismas, se observa en el pretratamiento.

15 En un modo de realización, la concentración de IL-17, o, si se determina adicionalmente, la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de INF- γ , o la combinación de las mismas, se observa a los 2 meses tras la primera administración de acetato de glatirámero.

20 Si se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano la composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable como monoterapia.

25 Si se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable, y luego también se administra al sujeto humano otro fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero. En un modo de realización adicional, el fármaco para la esclerosis múltiple se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.

Si no se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero.

30 Si no se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero, luego se administra al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple que no sea acetato de glatirámero, y luego no se administra al sujeto humano acetato de glatirámero.

En un modo de realización, el fármaco para la esclerosis múltiple se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.

35 En un modo de realización, el biomarcador es la concentración de IL-17(A). Una concentración de IL-17 o una concentración de IL-17(A) mayor que o igual a 120 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

Si se determina la concentración de TNF- α , una concentración de TNF- α mayor que o igual a 20000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

Si se determina la concentración de IFN- γ , una concentración de IFN- γ mayor que o igual a 6000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

40 Si se determina la concentración de IL-2, una concentración de IL-2 mayor que o igual a 30000 pg/ml se asocia con un sujeto humano identificado como un paciente que responde al acetato de glatirámero.

En un modo de realización, el sujeto humano es un paciente sin tratamiento previo.

45 En un modo de realización, se ha administrado previamente al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple distinto de acetato de glatirámero. En un modo de realización adicional, el fármaco para la esclerosis múltiple administrado previamente se selecciona de interferón, mitoxantrona y natalizumab.

Definiciones

Formas de esclerosis múltiple:

Existen cinco fases de la enfermedad y/o tipos de EM claros:

1) esclerosis múltiple benigna; 2) esclerosis múltiple recidivante-remitente (EMRR);

- 3) esclerosis múltiple progresiva secundaria (EMPS);
- 4) esclerosis múltiple recidivante progresiva (EMRP); y
- 5) esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP).

5 La esclerosis múltiple benigna es un diagnóstico retrospectivo que se caracteriza por 1-2 exacerbaciones con recuperación completa, sin discapacidad duradera y sin evolución de la enfermedad durante 10-15 años tras la aparición inicial. Sin embargo, la esclerosis múltiple benigna puede evolucionar a otras formas de esclerosis múltiple.

Los pacientes que padecen EMRR experimentan recidivas o exacerbaciones esporádicas, así como periodos de remisión. Las lesiones y evidencia de la pérdida axonal pueden ser visibles o no en RMN para pacientes con EMRR.

10 La EMPS puede surgir a partir de la EMRR. Los pacientes aquejados de EMPS tienen recidivas, un grado de disminuido de recuperación durante las remisiones, remisiones menos frecuentes y deficiencias neurológicas más pronunciadas que los pacientes con EMRR. Los ventrículos dilatados, que son marcadores para la atrofia del cuerpo calloso, el centro de la línea media y la médula espinal, son visibles en RMN de pacientes con EMPS.

15 La EMPP se caracteriza por una evolución constante de deficiencias neurológicas en incremento sin remisiones o ataques claros. Las lesiones cerebrales, daño difuso en la médula espinal y evidencia de pérdida axonal son evidentes en RMN de pacientes con EMPP. La EMPP tiene periodos de exacerbaciones agudas mientras transcurre con un curso de deficiencias neurológicas en incremento sin remisiones. Las lesiones son evidentes en RMN de pacientes que padecen EMRP. (28)

20 Un síndrome clínico aislado o (SCA) es un ataque monosintomático único compatible con la EM, tal como neuritis óptica, síntomas en el tronco encefálico y mielitis parcial. Generalmente se considera que los pacientes con SCA que experimentan un segundo ataque clínico tienen esclerosis múltiple clínicamente definida (EMCD). Más de un 80 por ciento de los pacientes con un SCA y lesiones en RMN llegan a desarrollar EM, mientras que aproximadamente un 20 por ciento tienen un proceso autolimitado. (29, 30) Los pacientes que experimentan un ataque clínico único consistente con EM pueden tener al menos una lesión consistente con esclerosis múltiple antes del desarrollo de esclerosis múltiple clínicamente definida.

25 La esclerosis múltiple se puede presentar con neuritis óptica, visión borrosa, diplopia, movimiento ocular rápido involuntario, ceguera, pérdida del equilibrio, temblores, ataxia, vértigo, torpeza de un miembro, falta de coordinación, debilidad de una o más extremidades, tono muscular alterado, rigidez muscular, espasmos, hormigueo, parestesia, sensación de escozor, dolores musculares, dolor facial, neuralgia del trigémino, dolores punzantes agudos, dolor con hormigueo y escozor, retardo del habla, farfullo de las palabras, cambios en el ritmo del habla, disfagia, fatiga, problemas de vejiga (incluyendo urgencia, frecuencia, vaciado incompleto e incontinencia), problemas intestinales (incluyendo estreñimiento y pérdida del control intestinal), impotencia, excitación sexual disminuida, pérdida de sensibilidad, sensibilidad al calor, pérdida de memoria a corto plazo, pérdida de concentración o pérdida de juicio o razonamiento.

Forma recidivante de la esclerosis múltiple:

35 El término EM recidivante incluye:

- 1) pacientes con EMRR;
- 2) pacientes con EMPS y recidivas superpuestas; y
- 3) pacientes con SCA que muestran extensión de las lesiones en RMN posterior de acuerdo con los criterios de McDonald.

40 Como se usa en el presente documento, las formas recidivantes de esclerosis múltiple incluyen: esclerosis múltiple recidivante-remitente (EMRR), caracterizada por episodios agudos impredecibles de disfunción neurológica (recidivas), seguido de recuperación variable y periodos de estabilidad clínica;

EM progresiva secundaria (EMPS), en la que los pacientes que tienen EMRR desarrollan un deterioro continuo con o sin recidivas superpuestas; y

45 esclerosis múltiple recidivante-progresiva primaria (EMRPP) o esclerosis múltiple recidivante-progresiva (EMRP), una forma poco común en la que los pacientes que desarrollan un deterioro progresivo desde el comienzo también pueden desarrollar recidivas más adelante.

Escala ampliada del estado de discapacidad (EAED) de Kurtzke:

50 La escala ampliada del estado de discapacidad (EAED) de Kurtzke es un procedimiento de cuantificación de la discapacidad en la esclerosis múltiple. La EAED reemplaza las escalas del estado de discapacidad previas que solían agrupar a las personas con EM en los soportes inferiores. La EAED cuantifica la discapacidad en ocho

sistemas funcionales (SF) y permite a los neurólogos asignar una puntuación en el sistema funcional (PSF) en cada uno de estos. Los sistemas funcionales son: piramidal, cerebeloso, tronco encefálico, sensitivo, intestino y vejiga, visual y cerebral (de acuerdo con www.mult-sclerosis.org/expandeddisabilitystatusscale).

Recidiva clínica:

5 Una recidiva clínica, que también se puede usar en el presente documento como "recidiva", "recidiva confirmada" o "recidiva clínicamente definida" se define como la aparición de una o más nuevas anomalías neurológicas o la reaparición de una o más anomalías neurológicas observadas previamente.

10 Este cambio en el estado clínico debe durar al menos 48 horas y debe estar precedido inmediatamente por un estado neurológico de mejora o estable relativamente de al menos 30 días. Este criterio es diferente de la definición clínica de exacerbación "de al menos 24 horas de duración de los síntomas", (31) como se detalla en la sección "evaluación de las recidivas".

Únicamente se cuenta un acontecimiento como una recidiva cuando los síntomas del sujeto están acompañados de cambios neurológicos objetivos observados, consistentes con:

15 a) un incremento de al menos 1,00 en la puntuación en la EAED o un grado en la puntuación de dos o más de los siete SF (32); o

b) dos grados en la puntuación de uno de los SF en comparación con la evaluación previa.

No se debe estar sometiendo al sujeto a ningún cambio metabólico agudo, tal como fiebre u otra anomalía médica. Un cambio en la función del intestino/vejiga o en la función cognitiva no debe ser totalmente responsable de los cambios en las puntuaciones en la EAED o SF.

20 Como se usa en el presente documento, "en la sangre del sujeto" está representado por "suero" y también el "sobrenadante" de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto.

25 Como se usa en el presente documento, el "sobrenadante" hace referencia a sobrenadantes recogidos a partir de células mononucleares de sangre periférica (CMSP) purificadas a partir de muestras de sangre de sujetos, y estimuladas como se describe en los procedimientos a continuación en el presente documento. Se puede realizar la estimulación en CMSP recién aisladas o bien en células crioconservadas tras la descongelación.

Como se usa en el presente documento, "concentración observada a" un determinado punto temporal hace referencia a una concentración medida en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto a ese punto temporal determinado. Se puede medir la concentración en células recién aisladas o en las células crioconservadas tras la descongelación.

30 Como se usa en el presente documento, "pretratamiento" hace referencia a cualquier punto temporal tras el diagnóstico con EM o SCA y antes del comienzo del tratamiento con una composición que comprende AG.

35 Como se usa en el presente documento, un "fármaco para la esclerosis múltiple" es un fármaco o un agente destinado a tratar la EM clínicamente definida, SCA, cualquier forma de enfermedades desmielinizantes o neurodegenerativas o síntomas de cualquiera de las enfermedades mencionadas anteriormente. Los "fármacos para la esclerosis múltiple" pueden incluir, pero no se limitan a anticuerpos, inmunodepresores, agentes antiinflamatorios, inmunomoduladores, citocinas, agentes citotóxicos y esteroides y pueden incluir medicamentos aprobados, fármacos en ensayo clínico o tratamientos alternativos, destinados a tratar la EM clínicamente definida, SCA o cualquier forma de enfermedades desmielinizantes o neurodegenerativas. Los "fármacos para la esclerosis múltiple" incluyen, pero no se limitan a interferón y sus derivados (incluyendo BETASERON®, AVONEX® y REBIF®), mitoxantrona y natalizumab. Los agentes aprobados o en ensayo para el tratamiento de otras enfermedades autoinmunitarias, pero usados en un paciente con EM o SCA para tratar la EM o SCA, también se definen como fármacos para la esclerosis múltiple.

40 Como se usa en el presente documento, un "paciente sin tratamiento previo" es un sujeto que no se ha tratado con ningún fármaco para la esclerosis múltiple como se define en el párrafo precedente.

45 Detalles experimentales

Ejemplo

Evaluación de los niveles de citocinas en pacientes clasificados como pacientes que responden o pacientes que no responden al AG.

Procedimientos

50 Sujetos y células:

Se trataron pacientes con esclerosis múltiple recidivante-remitente (n=12) con 20 mg de AG o bien 40 mg de AG diariamente en el ensayo clínico FORTE de Teva (www.medicalnewstoday.com/articles/48863.php).

5 Se tomó sangre entera de pacientes en tres puntos temporales, incluyendo el punto de referencia (punto de referencia, mes 2 y mes 6). Se crioconservaron las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) en el punto de referencia, mes 2 y mes 6.

10 Se usaron la incidencia de las recidivas clínicas y la puntuación en la escala ampliada del estado de discapacidad (EAED) tras 12 meses de tratamiento para definir a los pacientes como pacientes que responden (sin recidiva clínica durante el periodo de prueba) o pacientes que no responden (1 o más recidivas clínicas como se define a continuación en el presente documento). A varios pacientes se les retiró el fármaco dentro del año el tratamiento debido a respuestas adversas y no se incluyeron en este análisis.

Ensayo de citocinas multiplex

15 Se extrajo sangre de pacientes en el punto de referencia, a los 2 meses y 6 meses. Se purificaron células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de la sangre usando un gradiente de Ficoll-Hypaque y se crioconservaron. Se descongelaron las CMSP crioconservadas de cada punto temporal, se dejaron descansar durante la noche en medio AIM V enriquecido con suero humano al 5% y se estimularon con PMA (1 mg/ml; SIGMA) e ionomicina (5 mg/ml; SIGMA) durante 6 horas (40.000 CMSP en 200 microlitros de volumen final). Se retiraron los sobrenadantes de células estimuladas y no estimuladas y se almacenaron a -20 °C hasta el ensayo con un kit 27-plex humano (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Se adquirieron los datos usando un lector de matrices Bio-Plex y se analizaron con el programa informático Bio-Plex Manager 4 (Bio-Rad). Se dibujaron los gráficos usando el programa informático Prism (GraphPad Software, Inc.). Se realizaron ambos 2-plex (IL-17 and IFN γ) y se usaron 20 27 multiplex (incluyendo 27 citocinas humanas) en este análisis de citocinas exhaustivo. Se individualizaron los datos multiplex de estos dos ensayos en una base por paciente y se presentaron en la fig. 2.

Evaluación de las recidivas

25 Se definió una recidiva clínica como la aparición de una o más nuevas anomalías neurológicas o la reaparición de una o más anomalías neurológicas observadas previamente.

30 Este cambio en el estado clínico duró al menos 48 horas y estuvo precedido inmediatamente por un estado neurológico de mejora o estable relativamente de al menos 30 días. El criterio usado en el estudio fue diferente de la definición clínica de exacerbación "de al menos 24 horas de duración de los síntomas". (31) Puesto que la definición de exacerbación "en estudio" se debe apoyar en una evaluación neurológica objetiva (véase el próximo párrafo), una deficiencia neurológica debe continuar el tiempo suficiente para eliminar las pseudoexacerbaciones.

Únicamente se contó un acontecimiento como una recidiva cuando los síntomas del sujeto estuvieron acompañados de cambios neurológicos objetivos observados, consistentes con:

- 35 a) un incremento de al menos 1,00 en la puntuación en la EAED o un grado en la puntuación de dos o más de los siete SF (32); o
- b) dos grados en la puntuación de uno de los SF en comparación con la evaluación previa.

No se estaba sometiendo al sujeto a ningún cambio metabólico agudo, tal como fiebre u otra anomalía médica. Un cambio en la función del intestino/vejiga o en la función cognitiva no fue totalmente responsable de los cambios en las puntuaciones en la EAED o SF.

Evaluación de los sujetos por el neurólogo examinador

40 Se realizó una evaluación neurológica completa en los meses -1 (cribado), 0 (punto de referencia), 3, 6, 9, 12 (final de la fase con enmascaramiento doble), 18 y 24 (terminación/interrupción temprana).

Determinación de las recidivas por el neurólogo responsable

45 La decisión en cuanto a si el cambio neurológico se consideraba una recidiva confirmada fue tomada por el médico responsable basándose en las puntuaciones reales (no convertidas) en la EAED/SF evaluadas por el neurólogo examinador.

Las consultas de seguimiento para comprobar el curso de la recidiva se hicieron según el criterio del médico responsable, además de la evaluación en la próxima visita programada, pero las evaluaciones neurológicas se realizaron por el neurólogo examinador.

Procedimientos de evaluación de las recidivas

50 Se ordenó a los sujetos que llamaran por teléfono a su centro de estudio dentro de las 48 horas en caso de que apareciera cualquier síntoma indicativo de una recidiva.

El neurólogo examinador evaluó al sujeto dentro de los 7 días de aparición de los síntomas, en función de un periodo sintomático de ≥ 48 horas. El neurólogo/médico responsable evaluó al sujeto una vez que se produjo cualquier síntoma indicativo de una recidiva.

5 En caso de una recidiva indicativa durante una visita programada o no programada, el neurólogo/médico responsable derivó al sujeto al neurólogo/médico examinador.

Resultados

10 Estos hallazgos demuestran niveles incrementados de IL-17(A), TNF-alfa, IL-2 e IFN-gamma en el punto de referencia y puntos temporales de 2 meses en aquellas personas que estuvieron sin recidivas clínicamente definidas en el periodo de ensayo de un año después del inicio del tratamiento. Por el contrario, se observaron niveles sustancialmente más bajos de estas mismas citocinas proinflamatorias en quienes tuvieron recidivas clínicamente definidas durante el periodo de ensayo (véase la figura 1 y la figura 2).

Análisis

15 Para este estudio, se obtuvieron las CMSP en el punto de referencia, 2 meses y 6 meses después del inicio del tratamiento con acetato de glatirámero. Los hallazgos demuestran niveles incrementados de IL-17(A), IL-2, TNF α y IFN γ en el punto de referencia y 2 meses tras el comienzo del tratamiento con AG en aquellas personas que estuvieron sin recidivas clínicamente definidas en el periodo de ensayo de un año después del inicio del tratamiento. Por el contrario, se descubrieron niveles sustancialmente más bajos de estas mismas citocinas proinflamatorias en quienes tuvieron recidivas clínicamente definidas durante el periodo de ensayo como se muestra en la fig. 1.

20 Se han usado ensayos *ex vivo* para comprobar los efectos inmunológicos del AG en pacientes con EM tratados con AG. Por ejemplo, Hohlfeld *et al.* notificaron: (1) una reducción significativa de la proliferación de CMSP inducida por AG; (2) una respuesta por ELISPOT de IL-4 positiva mediada predominantemente por células CD4 tras la estimulación con AG; y (3) una respuesta de IFN-gamma elevada parcialmente mediada por células CD8 tras la estimulación con altas concentraciones de AG, en pacientes no tratados frente a tratados con AG (33).

25 En el presente estudio, se usó un ensayo *ex vivo* simple para medir la concentración de citocinas en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre de pacientes con EMRR. Los datos sugieren que patrones de citocinas específicos pueden estar asociados con la identificación de quienes responden al tratamiento con acetato de glatirámero. La tendencia que se observa puede ser indicativa de patrones de citocinas que se podrían medir fácilmente y podrían contribuir a la determinación del grado de respuesta al AG antes del tratamiento con AG, y a un punto temporal temprano tras el comienzo de la administración de AG.

Referencias:

1. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 2000; 343:938-52.
2. Guideline on clinical investigation of medicinal products for the treatment of multiple sclerosis EMEA, London 16 September 2006.
- 35 3. Bjartmar C, Fox RJ. Pathological mechanisms and disease progression of multiple sclerosis: therapeutic implications. *Drugs of Today* 2002; 38:17-29.
4. Fleming JO. Diagnosis and management of multiple sclerosis. 1st ed. New York: Professional communications, Inc., 2002.
- 40 5. Anderson DW, Ellenberg JH, Leventhal CM et al. Revised estimate of the prevalence of multiple sclerosis in the United States. *Ann Neurol* 1992; 31:333-36.
6. Compston A, Lassmann H, McDonald I. The story of multiple sclerosis. In: Compston A, Confavreux C, Lassman H, McDonald I, Miller D, Noseworthy JH, Smith K, Wekerle H, editors. *McAlpine's Multiple Sclerosis*. London: Churchill Livingstone; 2006. p. 3-68.
7. Revel M., *Pharmacol. Ther.*, 100(1):49-62 (2003).
- 45 8. Martinelli BF, Rovaris M, Johnson KP, Miller A, Wolinsky JS, Ladkani D, Shifroni G, Comi G, Filippi M. Effects of glatiramer acetate on relapse rate and accumulated disability in multiple sclerosis: meta-analysis of three double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trials. *Mult Scler.* 2003 Aug; 9(4):349-55.
9. Mikol DD, Barkhof F, Chang P, Coyle PK, Jeffery DR, Schwid SR, Stubinski B, Uitdehaag BM; REGARD study group. *Lancet Neurol.* 2008 Oct; 7(10): 903-14. Epub 2008 Sep 11.
- 50 10. BECOME TRIAL, Presented at the 23rd Congress of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS) in Prague, Czech Republic.

11. Comi G, Filippi M and Wolinsky JS. European /Canadian multi-center, double-blind randomized, placebo controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging-measured disease activity and burden in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; (49): 290-297.
- 5 12. Fridkis HM, Aharoni R, Teitelbaum D, Arnon R, Sela M, Strominger JL. Binding of random copolymers of three amino acids to class II MHC molecules. *Int. Immunol.* 1999 May; 11(5): 635-41.
13. Dhib-Jalbut SS, Zhan M, Johnson KP, Martin R. Glatiramer acetate reactive blood mononuclear cells respond to myelin antigens with a Th-2 biased phenotype. *J Neuroimmunology* 2003; 140:163-171.
14. Chen M, Gran B, Costello K, Johnson KP, Martin R, Dhib-Jalbut S. Glatiramer acetate induces a Th-2 biased response and cross-reactivity with myelin basic protein in patients with MS. *Multiple Sclerosis* 2001; 7:209-219.
- 10 15. Weber MS, Prod'homme T, Youssef S, Dunn SE, Rundle CD, Lee L, Patarroyo JC, Stüve O, Sobel RA, Steinman L, Zamvil SS. Type II monocytes modulate T cell-mediated central nervous system autoimmune disease. *Nat Med* (2007) 13: 935-943.
16. Aharoni R, Kayhan B, Eilam R, Sela M, and Arnon R. Glatiramer acetate-specific T cells in the brain express T helper 2/3 cytokines and brain-derived neurotrophic factor in situ. *PNAS* Aug 2003; 100 (24): 14157-62.
- 15 17. Sarchielli P, Zaffaroni M, Floridi A, Greco L, Candelieri A, Mattioni A, Tenaglia S, Di Filippo M, Calabresi P. Production of brain-derived neurotrophic factor by mononuclear cells of patients with multiple sclerosis treated with glatiramer acetate, interferon-beta 1a, and high doses of immunoglobulins. *Mult Scler* 2007 Apr;13(3): 313-31. Epub 2007 Jan 29.
18. Bornstein, MB, Miller, A, Slagle, S, et al. A pilot trial of Cop 1 in exacerbating relapsing multiple sclerosis. *New Eng J Med* 1987; 317: 408-14.
- 20 19. Comi, G, Filippi, M, Wolinsky, JS, et al. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging-measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2001; 49: 290-7.
- 20 20. Johnson, KP, Brooks, BR, Cohen, JA, et al. Extended use of glatiramer acetate (Copaxone) is well tolerated and maintains its clinical effect on multiple sclerosis relapse rate and degree of disability. *Neurology* 1998; 50:701-8.
21. Bornstein, MB, Miller, A, Slagle, S, et al. A placebo-controlled, double-blind, randomized, two-center, pilot trial of Cop-1 in chronic progressive multiple sclerosis. *Neurology* 1991; 41: 533-39.
- 30 22. Wolinsky, JS, Narayana, PA, O'Conner, P, et al. Glatiramer acetate in primary progressive multiple sclerosis: Results of a multinational, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Neurol* 2007; 61:14-24.
23. Comi G, Filippi M, Treatment with glatiramer acetate delays conversion to clinically definite multiple sclerosis (CDMS) in patients with clinically isolated syndromes (CIS). *Neurology* 2008; 71 (2): 153.
24. Tselis, A, Khan, O, Lisak, RP, Glatiramer acetate in the treatment of multiple sclerosis. *Neuropsychiatric Dis Treat* 2007;3 (2):259-67.
- 35 25. Wolinsky, JS, The use of glatiramer acetate in the treatment of multiple sclerosis. *Adv Neurol* 2006; 273-92.
26. Comi G, Cohen JA, Filippi M, Results from a phase III, one-year, randomized, double-blind, parallel-group, dose-comparison study with glatiramer acetate in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2008; 14 (suppl 1):S299.
- 40 27. Comi G, Filippi M. Presented at: 60th Annual Meeting of the American Academy of Neurology: April 12-19; Chicago, IL. Abstract LBS.003.
28. Johnson D, Hafler DA, Fallis RJ, Lees MB, Brady RO, Quarles RH, Weiner HL., "Cell-mediated immunity to myelin-associated glycoprotein, proteolipid protein, and myelin basic protein in multiple sclerosis.", *J Neuroimmunol.* 1986 Nov;13 (1):99-108.
- 45 29. Brex PA et al., "A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis", *N Engl J Med* 2002 Jan 17, 346 (3):158-64.
30. Frohman EM et al., "The utility of MRI in suspected MS: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology", *Neurology*, 2003, Sep 9, 61 (5):602-11.
31. Poser C M. et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines for research protocols. *Ann. Neurol.*, 13(3):227-31, 1983

32. Neurostatus, slightly modified from J.F. Kurtzke *Neurology* 1983;33,1444-52; L. Kappos, Dept. of Neurology, University Hospital, CH-4031/Basel, Switzerland.
33. Farina C, Then Bergh F, Albrecht H, Meinel E, Yassouridis A, Neuhaus O, Hohlfeld R. Treatment of multiple sclerosis with Copaxone (COP): Elispot assay detects COP-induced interleukin-4 and interferon-gamma response in blood cells. *Brain*. 2001 Apr;124(Pt 4):705-19.

5

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de predicción del grado de respuesta clínico al tratamiento con acetato de glatirámero en un sujeto humano aquejado de esclerosis múltiple o un ataque clínico único consistente con esclerosis múltiple, comprendiendo el procedimiento evaluar la concentración de IL-17 en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto, e identificar al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero basándose en la concentración de IL-17, identificándose este sujeto como un paciente que responde al acetato de glatirámero mediante las etapas que comprenden,
 - (i) purificar las CMSP de la sangre del sujeto y después crioconservar las CMSP;
 - (ii) descongelar y después cultivar las CMSP crioconservadas durante la noche en medio de cultivo enriquecido con suero humano al 5 %;
 - (iii) estimular 40.000 de dichas CMSP cultivadas con 1 mg/ml de PMA y 5 mg/ml de ionomicina en un volumen final de 200 microlitros durante 6 horas; e
 - (v) identificar al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero si la concentración de IL-17 del sobrenadante de las CMSP tras la etapa (iii) es mayor que o igual a 120 pg/ml,
 prediciendo así el grado de respuesta clínico al acetato de glatirámero.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el tratamiento con acetato de glatirámero comprende administrar al sujeto humano tres inyecciones subcutáneas de una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable durante un periodo de siete días con al menos un día entre cada inyección subcutánea.
3. Una composición farmacéutica que comprende acetato de glatirámero y un vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento de un sujeto humano aquejado de esclerosis múltiple o un ataque clínico único consistente con esclerosis múltiple, en la que el sujeto humano es un paciente sin tratamiento previo o se le ha administrado previamente un fármaco para la esclerosis múltiple distinto de acetato de glatirámero, y en la que se identifica al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero basándose en la concentración de IL-17 en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto, lográndose esta identificación mediante las etapas que comprenden,
 - (i) purificar las CMSP de la sangre del sujeto y después crioconservar las CMSP;
 - (ii) descongelar y después cultivar las CMSP crioconservadas durante la noche en medio de cultivo enriquecido con suero humano al 5 %;
 - (iii) estimular 40.000 de dichas CMSP cultivadas con 1 mg/ml de PMA y 5 mg/ml de ionomicina en un volumen final de 200 microlitros durante 6 horas; e
 - (iv) identificar al sujeto humano como un paciente que responde al acetato de glatirámero si la concentración de IL-17 del sobrenadante de las CMSP tras la etapa (iii) es mayor que o igual a 120 pg/ml.
4. El procedimiento de la reivindicación 1 o la reivindicación 2 o la composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 3, en el que la concentración de IL-17 es la concentración de IL-17(A).
5. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 4 o la composición farmacéutica para su uso de la reivindicación 3 o la reivindicación 4, que comprende adicionalmente evaluar la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2, la concentración de IFN- γ , o una combinación de las mismas, en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto humano.
6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 4-5 o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, que comprende adicionalmente evaluar la concentración de TNF- α , la concentración de IL-2 y la concentración de IFN- γ en el sobrenadante de las CMSP procedentes de la sangre del sujeto humano.
7. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 4-6 o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en el que el sujeto humano es un paciente sin tratamiento previo.
8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 4-6 o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-6, en el que se ha administrado previamente al sujeto humano un fármaco para la esclerosis múltiple distinto de acetato de glatirámero.
9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 4-8 o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-8, en el que el sujeto humano está aquejado de esclerosis múltiple.

10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 4-9 o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-9, en el que se evalúa la concentración de IL-17 en el pretratamiento.
- 5 11. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 4-9 o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-9, en el que se evalúa la concentración de IL-17 a los 2 meses tras la primera administración de acetato de glatirámero.
12. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 4-11 o la composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-11, en el que la composición farmacéutica es una dosis unitaria de una solución acuosa de 0,5 ml que comprende 20 mg de acetato de glatirámero.
- 10 13. La composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-12, en la que la composición farmacéutica es para su uso en una pauta de tres inyecciones subcutáneas de acetato de glatirámero durante un periodo de siete días con al menos un día entre cada inyección subcutánea.
14. La composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-13, en la que el tratamiento comprende la administración de la composición farmacéutica al sujeto humano como monoterapia.
- 15 15. La composición farmacéutica para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3-14, en la que el tratamiento es eficaz para el sujeto humano que no tiene recidivas clínicamente definidas.

Figura 1A

Línea temporal que muestra la puntuación en la EAED de los pacientes que responden con tratamiento con AG

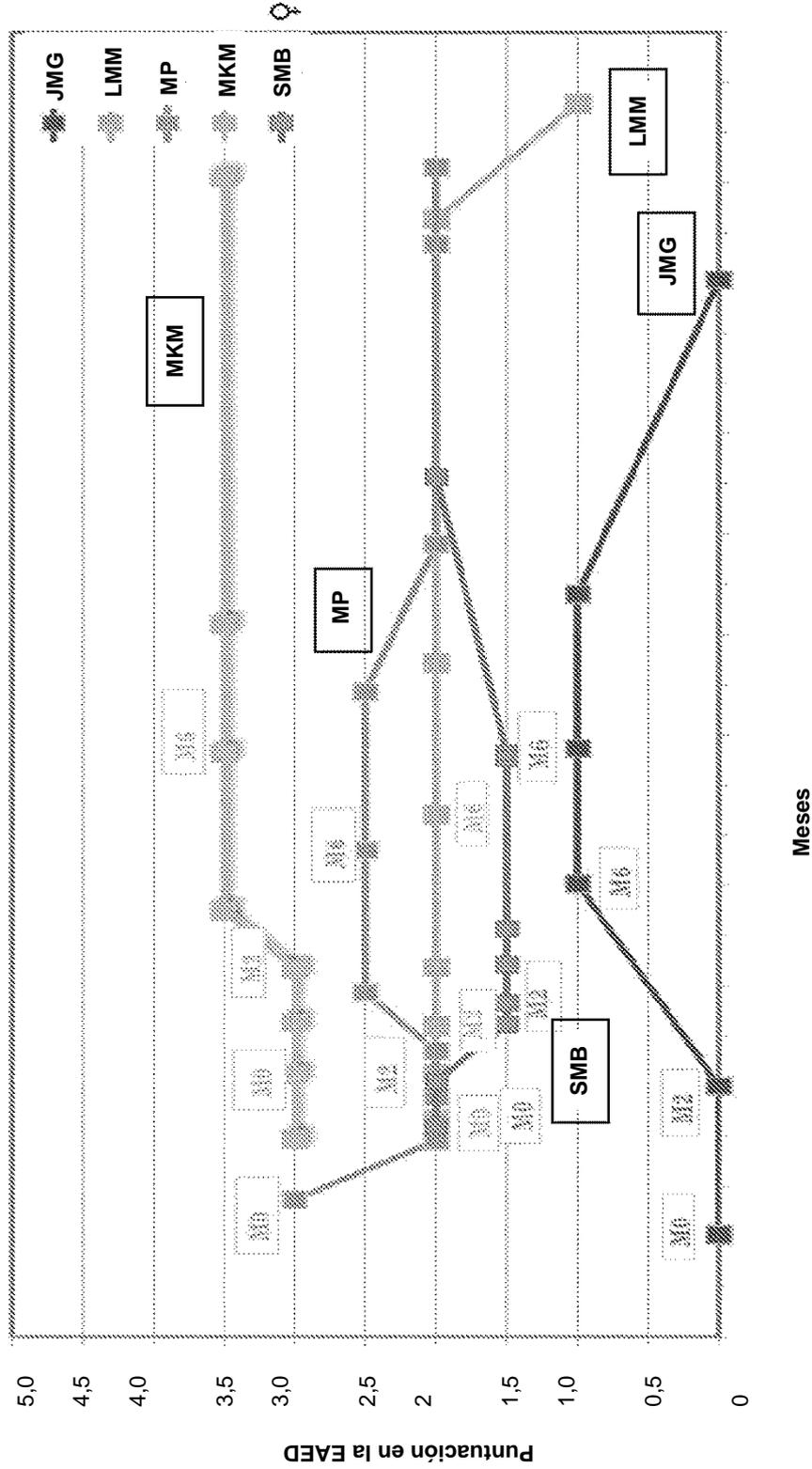


Figura 1B

Línea temporal que muestra la puntuación en la EAED de los pacientes que no responden con tratamiento con AG

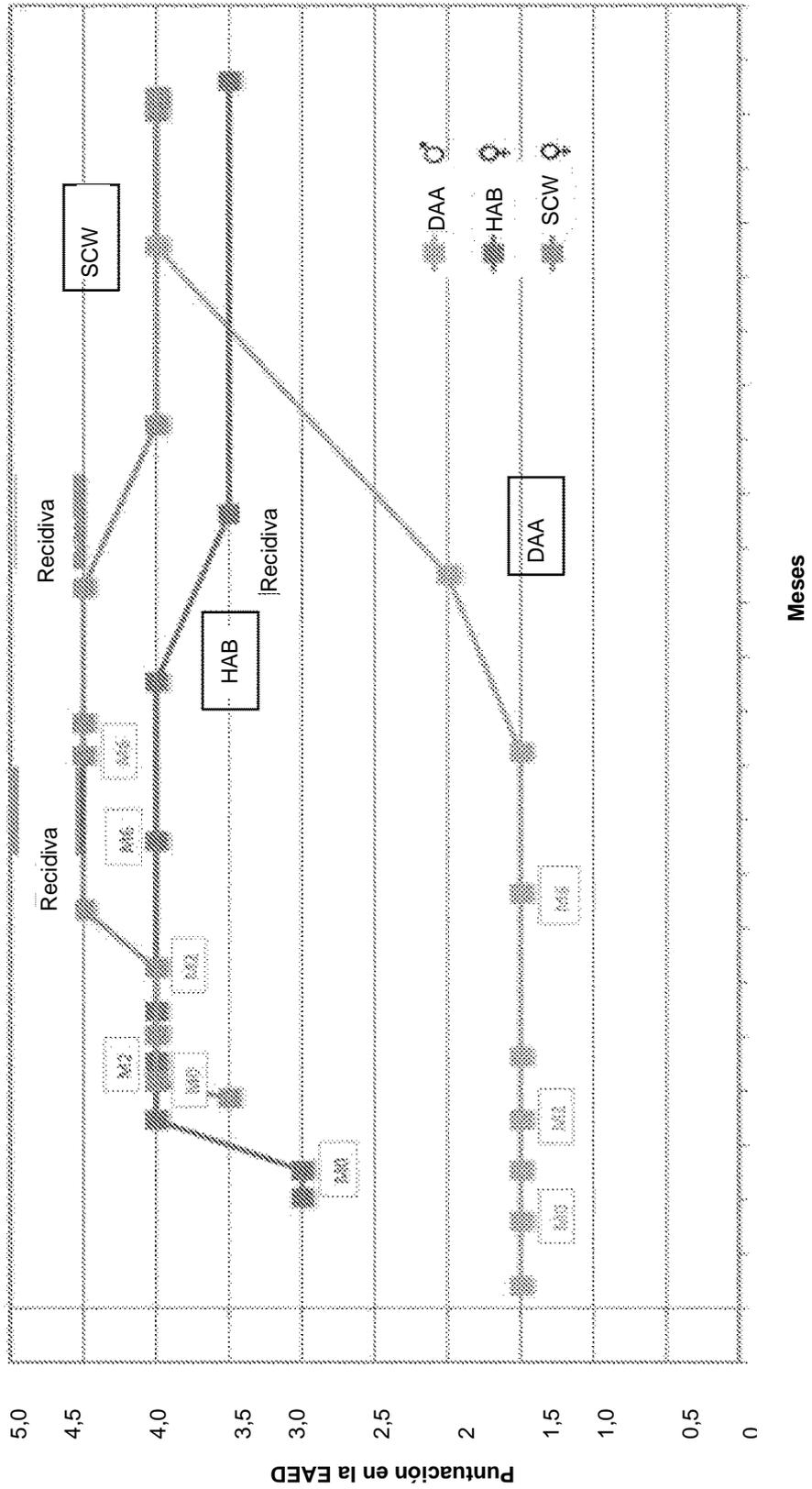


Figura 2A

Niveles de citocinas secretadas por las CMSP de pacientes que responden en el punto de referencia y tras 2 meses de tratamiento con AG

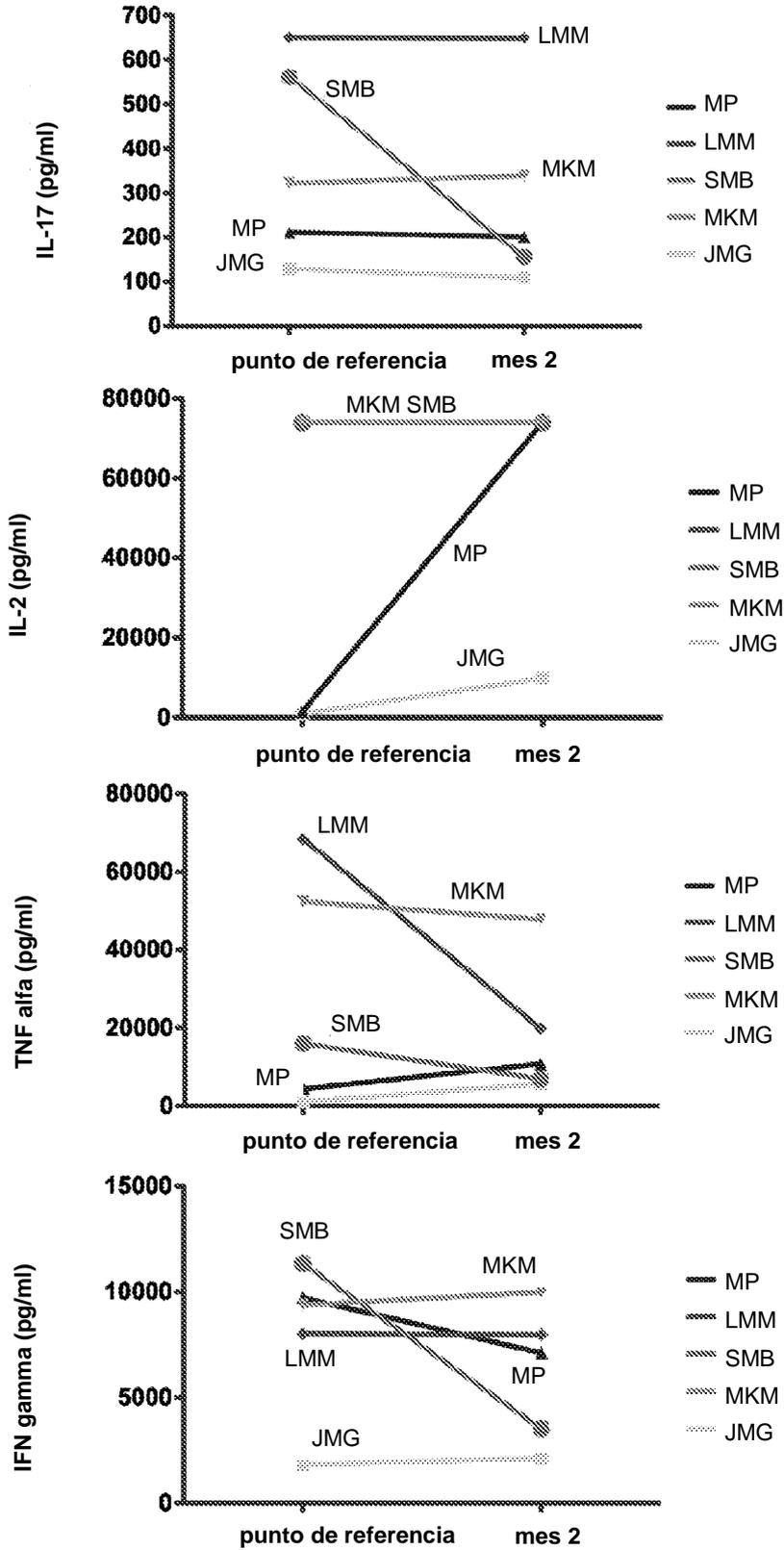


Figura 2B

Niveles de citocinas secretadas por las CMSP de pacientes que no responden en el punto de referencia y tras 2 meses de tratamiento con AG

