

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 612 558**

51 Int. Cl.:

G01N 33/50 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/74 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.02.2008** **PCT/US2008/002047**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2008** **WO08103292**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.02.2008** **E 08725657 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.10.2016** **EP 2130044**

54 Título: **Método de identificación de riesgo para el trastorno del tiroides**

30 Prioridad:

16.02.2007 US 901732 P

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

17.05.2017

73 Titular/es:

GENZYME CORPORATION (100.0%)
500 Kendall Street
Cambridge, MA 02142, US

72 Inventor/es:

MARGOLIN, DAVID, H.

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 612 558 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método de identificación de riesgo para el trastorno del tiroides.

Antecedentes de la invención

Una función importante de la glándula tiroides es secretar las hormonas tiroideas L-tiroxina (T4) y L-triiodotironina (T3). Estas hormonas tiroideas regulan aspectos importantes del metabolismo. Existe un estado de hipotiroidismo cuando los niveles sanguíneos de T3 y T4 son anormalmente bajos y existe hipertiroidismo cuando sus niveles son anormalmente elevados. El hipotiroidismo sin tratar y severo está caracterizado por el aumento de peso, baja energía y depresión, intolerancia al frío y cambios en la piel y el cabello. El hipertiroidismo sin tratar y severo se presenta como un estado denominado tirotoxicosis, caracterizado por la pérdida de peso, nerviosismo o inestabilidad emocional, intolerancia al calor, temblores y una frecuencia cardíaca rápida y puede causar fibrilación auricular. En algunos casos, el hipotiroidismo o hipertiroidismo pueden ocurrir sin síntomas ni signos discernibles a pesar de los resultados anormales en pruebas de laboratorio de la función tiroidea (p. ej., un trastorno del tiroides subclínico).

T3 y T4 se producen bajo control directo de la hormona glicoproteica pituitaria anterior tirotrópica (hormona estimuladora tiroidea, TSH), que se regula a través de la hormona liberadora de tirotrópica (TRH, por su sigla en inglés) de la hormona hipotalámica. La TSH actúa a través de un receptor acoplado a la proteína G unida a una membrana (TSH-R) para activar las funciones principales del tiroides. La síntesis de T3 y T4 requiere la incorporación de yoduro en su precursor. La peroxidasa tiroidea (TPO, por su sigla en inglés) es una enzima que contiene el hemo glicosilado unido a la membrana que cataliza la yodación de los residuos de tirosil y el acoplamiento de los residuos de iodotirosil en la tiroglobulina para formar T3 y T4. Una vez sintetizada, T3 y T4 se almacenan en forma coloidal en la proteína tiroglobulina (Tg) antes de la liberación de las hormonas.

En condiciones patológicas, la TPO, el TSH-R y las proteínas Tg pueden volverse autoantígenas, es decir, objetivos para las respuestas autoinmunes más fácilmente identificadas por los autoanticuerpos que unen estas proteínas. Históricamente, también se detectaron y estudiaron los anticuerpos reactivos con la fracción microsomal del tejido del tiroides. Más tarde, se comprobó que la peroxidasa tiroidea era el objetivo principal de dichos anticuerpos microsomales antitiroideos. Teniendo esto presente, los anticuerpos microsomales tiroideos y los anticuerpos de la peroxidasa tiroidea se han considerado términos esencialmente equivalentes.

La función de señalización de la proteína del TSH-R normalmente se activa solo en la unión de la tirotrópica. Sin embargo, algunos anticuerpos dirigidos contra el TSH-R (en lo sucesivo, TSHRA) se pueden unir en el sitio de acoplamiento de tirotrópica, y esta clase de autoanticuerpos del TSHRA puede actuar como agonista directo (anticuerpo estimulante) o antagonista (anticuerpo bloqueante) del TSH-R. Así, la autoinmunidad del tiroides se puede asociar con la regulación aberrante de la secreción de la hormona tiroidea y causar ya sea hipotiroidismo o hipertiroidismo.

Un hallazgo diagnóstico frecuente en pacientes con el trastorno conocido indistintamente como la enfermedad de Graves, bocio difuso tóxico, la enfermedad de von Basedow o la enfermedad de Parry es la presencia del TSHRA en la sangre. Los anticuerpos dirigidos contra la TPO (en lo sucesivo, TPOA) pueden estar presentes o ausentes en la enfermedad de Graves. Como se explicó anteriormente, los pacientes con este trastorno pueden presentarse clínicamente con hipotiroidismo o hipertiroidismo, y en diferentes momentos, un paciente dado puede manifestar ambas afecciones. Además de la disfunción tiroidea, el trastorno puede involucrar otros tejidos. En oftalmopatía de Graves (técnicamente una orbitopatía, porque los cambios se limitan a estructuras orbitales y no afectan la estructura interna del ojo), la ampliación de los músculos extraoculares y la hipertrofia adiposa causa protrusión del globo ocular (exoftalmos o proptosis) que ocasiona visión doble (diplopía) y, en casos severos, pérdida de la visión. Algunos pacientes desarrollan una dermatopatía caracterizada por un edema y engrosamiento de la piel o engrosamiento de los huesos de los dedos. La enfermedad de Graves hipertiroides a menudo se puede tratar con fármacos supresores del tiroides oral, tales como el metimazol o el propiltiouracilo. Los casos refractarios pueden requerir la ablación del tiroides con yodo radiactivo o una tiroidectomía quirúrgica. Con la supresión del tiroides, el paciente requerirá la hormona de reemplazo del tiroides. La oftalmopatía severa puede requerir radioterapia proporcionada a las órbitas o descompresión quirúrgica de la órbita.

La tiroiditis autoinmune se conoce comúnmente entre los endocrinólogos como "tiroiditis silenciosa" y tiroiditis de Hashimoto. Los TPOA se encuentran comúnmente presentes en pacientes con este trastorno; los niveles elevados de los TPOA en el contexto de la presentación clínica del hipotiroidismo a menudo se toman como confirmación del diagnóstico de la enfermedad de Hashimoto. Los TSHRA están generalmente ausentes. En este trastorno, el daño inmunomediado a la glándula tiroides puede conducir a la pérdida de la hormona almacenada con tirotoxicosis transitoria asociada, pero comúnmente resulta en una glándula tiroides hipoactiva con hipotiroidismo asociado. El tratamiento generalmente consiste en la hormona de reemplazo tiroideo.

Ciertos estados de la enfermedad o intervenciones terapéuticas están asociados con un mayor riesgo de trastornos del tiroides autoinmunes. Por ejemplo, los trastornos del tiroides ocurren con frecuencia entre los pacientes que reciben la terapia con interferón-alfa para la infección por virus de la hepatitis C (Preziati, D., et al., *Eur J Endocrinol*, 132(5)587-93 (1995)). Entre los pacientes con infección por virus de la hepatitis C, los anticuerpos del pretratamiento

a la TPO o fracción microsomal tiroidea (una parte de los cuales se conoce por reconocer la TPO) parecen ser un marcador para el mayor riesgo de trastornos de hipertiroidismo e hipotiroidismo entre los pacientes que posteriormente reciben la terapia de interferón-alfa (Marazuela, M., et al., *Clin Endocrinol* 44:635-42 (1996); Watanabe, U., et al., *Am J Gastroenterol*, 89(3):399-403 (1994); Fernandez-Soto, L., et al., *Arch Intern Med*, 158:1445-1448 (1998)). Del mismo modo, el TPOA detectado durante el embarazo parece predecir el riesgo de trastornos del tiroides después del parto (Vargas, M.T., et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 67(2):327-33 (1988)).

Los trastornos autoinmunes del tiroides también ocurren con mayor frecuencia entre los pacientes que han recibido previamente tratamientos que agotan los linfocitos. Dicha terapia es alemtuzumab. Alemtuzumab (Campath[®], MabCampath[®], Campath-1H[®]) es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une selectivamente con el antígeno de la proteína conocido como CD52. CD52 es una molécula abundante (aproximadamente 5×10^5 sitios de unión del anticuerpo por célula) presente en por lo menos el 95 % de todos los linfocitos de sangre periférica humana y monocitos/macrófagos (Hale G, et al., *The CAMPATH-1 antigen (CD52). Tissue Antigens*; 35:178-327 (1990)), pero está ausente de las células madre hemopoyéticas. El tratamiento de una persona con alemtuzumab utilizando una dosificación y régimen adecuados, entre otros efectos, dará como resultado el agotamiento rápido y relativamente sostenido de los tejidos corporales y de la sangre de los linfocitos normales y neoplásicos mientras se conservan las células madre hemopoyéticas que se necesitan para repoblar el sistema inmune. Alemtuzumab está descrito en la patente estadounidense 5.846.534.

Alemtuzumab está aprobado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica de células B (LLC-B) en pacientes que han recibido tratamiento con agentes alquilantes y en quienes la terapia con fludarabina ha fracasado. Los estudios clínicos han demostrado que el alemtuzumab está también activo en otras malignidades hematológicas tales como linfoma no de Hodgkin y leucemias, y en una variedad de trastornos inmunomediados que incluyen la enfermedad hospedante frente a injerto, el rechazo de trasplante de órganos, la artritis reumatoide y, en particular la esclerosis múltiple (Hale G. y Waldmann H., *From laboratory to clinic: the story of CAMPATH-1*. En: George AJT, Urch CE, eds. *Methods in Molecular Medicine: Diagnostic and Therapeutic Antibodies*. NJ: Humana Press; 2000; 40:243-266).

Hale y Waldmann fueron los primeros en describir el uso de Campath-1H para tratar la esclerosis múltiple (EM) (véase patente estadounidense n.º 6.120.766). Desde entonces, la seguridad y la eficacia de Campath-1H ha sido el foco de varios estudios clínicos en pacientes con esclerosis múltiple (véase, p. ej.: T. Moreau et al., *Lancet* (1994), 344:298-301; T. Moreau et al., *Brain* (1996), 119:225-237; A. Coles et al., *Ann. Neurol.* (1999), 46:296-304; A. Coles et al. (*Neurology* 60 marzo de 2003 (Supl. 1); A. Coles et al., *Clinical Neurology and Neurosurgery* (2004), 106:270-274).

Más recientemente, en el estudio clínico de Fase 2 designado CAMMS223, se administró alemtuzumab en dos niveles de dosis (una tanda de cinco días de 12 mg o 24 mg/día para dosis acumuladas de 60 o 120 mg en el primer año, seguido de una tanda de tres días de 12 mg o 24 mg/día para dosis acumuladas de 36 o 72 mg en el segundo año, con posible retratamiento con uso similar de 36 o 72 mg en el tercer año). En el diseño de un comparador activo, los pacientes en el brazo de control recibieron interferón beta-1a (Rebif[®]; EMD Serono, Inc.) 44 mcg por vía subcutánea (SC, por su sigla en inglés) tres veces por semana como se indica en la etiqueta del producto (O'Donnell, L, et al., presentado en el *Consortium of Multiple Sclerosis Centers Annual Meeting*, Toronto, Canadá, del 2 al 6 de junio de 2004; Compston, A., et al., presentado en la *22nd meeting of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS)*, Madrid, España. del 27 al 30 de septiembre de 2006; Fox, E., et al., presentado en el ECTRIMS, Madrid, España (2006)).

Los resultados provisionales se derivaron de los análisis provisionales de la eficacia y seguridad especificados previamente y se realizaron después de uno o dos años de tratamiento para todos los pacientes en el ensayo previsto de tres años. Demostraron que el alemtuzumab fue más eficaz que el interferón beta-1a (Rebif[®]; EMD Serono, Inc.), un tratamiento habilitado para EM, para reducir el riesgo de una recaída de EM y reducir el aumento de la discapacidad sostenida. Específicamente, los pacientes tratados con el régimen de alemtuzumab presentaron por lo menos una reducción del 75 % en el riesgo de tener una recaída después de por lo menos uno y dos años de seguimiento en comparación con los pacientes tratados con interferón beta-1a. Los pacientes tratados con alemtuzumab además presentaron por lo menos una reducción del 60 % (en relación con los pacientes tratados con Rebif[®]) en el riesgo del aumento de la discapacidad sostenida después de 1 año, y por lo menos una reducción del 65 % en ese riesgo después de 2 años.

Durante los estudios piloto de alemtuzumab como tratamiento para la EM, se observó que un alto porcentaje de personas desarrollaron trastornos que afectan la glándula tiroides. El primer informe de este fenómeno (Coles et al. *Lancet*, 354:1691-95 (1999)) describió la evidencia clínica y de laboratorio de la enfermedad de tiroides autoinmune que se desarrolla en aproximadamente un tercio de los pacientes (9 de 27) que previamente habían recibido alemtuzumab como tratamiento para su EM. Específicamente, estos pacientes habían desarrollado anticuerpos contra el receptor de la tirotrópina y el hipertiroidismo autoinmune receptivo de carbimazol, y varios de ellos también tenían episodios caracterizados como tiroiditis autoinmune. Estudios posteriores del mismo grupo (Coles et al., *Neurology*, 60 marzo de 2003, supl. 1) y otros (Compston, A., et al., presentado en la *22nd meeting of the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS)*, Madrid, España. del 27 al 30 de septiembre de 2006) han confirmado que los trastornos glandulares tiroideos se producen con mayor frecuencia

después del tratamiento con alemtuzumab en pacientes con EM. La aparición de trastornos del tiroides típicamente se retrasa por varios meses o años después de la exposición inicial al alemtuzumab.

La aparición retrasada de los trastornos del tiroides también ocurren en otras circunstancias caracterizadas por el agotamiento y la repoblación de los linfocitos, en particular la aparición retrasada de los trastornos del tiroides después del trasplante de médula ósea, ya sea autólogo o alogénico, y para el tratamiento de inmunodeficiencia primaria o para la reconstitución después de la supresión de médula ósea yatrogénica (Ishiguro H., et al., *J Clin Endocrinol Metab*, 89(12):5981-6 (2004); Slatter M.A., et al., *Bone Marrow Transplant.*, 33(9):949-53 (2004); Carlson K., et al., *Bone Marrow Transplant.*, 10(2):123-7. (1992); Lee W.Y., et al., *Bone Marrow Transplant.*, 28(1):63-6. (2001)). En estos casos, los regímenes quimioterapéuticos variaron ampliamente. Su similitud principal con los pacientes con EM tratados con alemtuzumab propensos a la enfermedad tiroidea es la regeneración de las poblaciones de linfocitos a partir de un estado inicial de agotamiento natural o iatrogénico.

Una comprensión científica de la patogénesis de los trastornos autoinmunes del tiroides que complican las terapias que agotan los linfocitos y la razón de un retraso en la aparición de estos trastornos, está actualmente incompleta.

Para resumir, el alemtuzumab parece ser un tratamiento eficaz para pacientes con una variedad de trastornos, pero su uso en EM se ha asociado con complicaciones autoinmunes que incluyen trastornos tiroideos glandulares. Complicaciones similares ocurren con otras terapias que agotan los linfocitos. En algunos individuos, el beneficio de los regímenes terapéuticos que implican el agotamiento linfocítico puede compensarse por los efectos adversos. Así, con el fin de maximizar la relación entre beneficios y riesgos que asiste al uso de una terapia que agota los linfocitos tales como el alemtuzumab en pacientes (p. ej., pacientes con EM), sería conveniente disponer de un medio de identificación (p. ej., antes de la iniciación del tratamiento con alemtuzumab) para aquellas personas que están en mayor riesgo de padecer trastornos autoinmunes del tiroides. Dicha predicción de riesgo sería útil para apoyar la decisión médica fundamentada que, p. ej., si debe o no iniciar un tratamiento con un régimen que agota los linfocitos en una persona determinada en base al pronóstico de riesgo de este efecto adverso.

Balan K. K. et al. (*Journal of Nuclear Medicine*, 39(5) SUPPL: 263P (1998) y Poster N.º 1156, *45th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine*, Toronto, Ontario, Canadá, del 7 al 11 de junio de 1998) describe un estudio en el cual 27 pacientes con enfermedad activa recibieron un solo pulso del anticuerpo monoclonal humanizado anti CD52 (Campath-1 H) para conseguir una reducción del 95 % de linfocitos circulantes. 8/27 pacientes desarrollaron evidencia clínica y bioquímica de la tirotoxicosis (con anticuerpos contra el receptor de la hormona estimulante del tiroides TSH-R Ab). Los TSH-R Ab no estaban presentes en los pacientes antes del tratamiento ni en 50 controles de esclerosis múltiple.

GB2265713A describe el uso de autoanticuerpos monoclonales anti Tg o anti TPO en ensayos competitivos para autoanticuerpos anti Tg o anti TPO en muestras extraídas de pacientes.

Compendio de la invención

La presente descripción se refiere a un método para predecir el riesgo de padecer trastornos tiroideos glandulares que pueden ocurrir en un paciente como complicación de los regímenes terapéuticos que agotan los linfocitos (un régimen que agota los linfocitos). El método se basa en detectar la presencia o ausencia de autoanticuerpos en el paciente antes de recibir una primera tanda o una posterior del régimen que agota los linfocitos (p. ej., previa evaluación de autoanticuerpos en la sangre). Por ejemplo, el análisis de sangre antes del tratamiento con alemtuzumab permite la predicción de riesgo para trastornos del tiroides que pueden ocurrir después del tratamiento con alemtuzumab.

Más específicamente, la invención se basa en parte en el descubrimiento de que los pacientes con EM que tienen anticuerpos dirigidos contra la enzima peroxidasa tiroidea (TPO) antes o en el momento del tratamiento inicial con alemtuzumab corren mayor riesgo de desarrollar trastornos del tiroides después de dicho tratamiento.

Así, en un caso, la presente descripción consiste en un método para determinar los pacientes en un riesgo relativamente mayor de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un régimen terapéutico que agota los linfocitos (y quizás también agota otros tipos de células), que comprende el paso de analizar una muestra biológica del paciente para los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea (TPOA). Los pacientes que obtienen resultados positivos para los autoanticuerpos predictivos tienen un mayor riesgo relativo de desarrollar un trastorno del tiroides si reciben tratamiento con dicho régimen. Los individuos que obtienen resultados negativos para los autoanticuerpos predictivos tienen un menor riesgo relativo de un trastorno del tiroides si reciben el tratamiento.

En otro caso, la presente descripción consiste en un método para determinar los pacientes en un riesgo relativamente mayor de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un régimen terapéutico que agota las células que portan CD52 como un marcador superficial (es decir, células CD52 positivas), que comprende el paso de analizar una muestra biológica del paciente para los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea (TPOA). Los pacientes que obtienen resultados positivos para los autoanticuerpos predictivos tienen un mayor riesgo relativo de desarrollar un trastorno del tiroides si reciben tratamiento con el régimen que agota las células

CD52 positivas. Los individuos que obtienen resultados negativos para los autoanticuerpos predictivos tienen un menor riesgo relativo de un trastorno del tiroides si reciben dicho tratamiento.

Tal como se usa en la presente, un "régimen que agota las células CD52 positivas" incluye cualquier molécula que agota, parcial o totalmente, las células humanas con el marcador de CD52. Por ejemplo, un agente que agota las células CD52 positivas incluye, sin carácter restrictivo, un anticuerpo, un ARN interferente pequeño o una pequeña molécula que reduce el recuento de las células portadoras de CD52 de la circulación de la sangre o los tejidos corporales. El régimen terapéutico que agota las células CD52 positivas, en realizaciones particulares, implica la administración de un anticuerpo que se une específicamente a CD52. En algunas realizaciones, es un ser humano o un anticuerpo humanizado anti CD52 como o similar al alemtuzumab (Campath®, MabCampath®, Campath - 1H®).

En otro caso, la presente descripción se refiere a un método para la identificación de un paciente con esclerosis múltiple que está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un régimen que agota los linfocitos (p. ej., el tratamiento con un agente que agota las células CD52 positivas, tales como el alemtuzumab), que comprende determinar si los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea están presentes en el paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en el paciente entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento. Los métodos descritos en la presente memoria se aplican a pacientes con esclerosis múltiple recurrente-remitente y esclerosis múltiple primaria y secundaria progresiva.

En otro caso, la presente descripción consiste en un método para determinar los pacientes en riesgo relativamente mayor de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento, donde ese tratamiento consiste en un régimen terapéutico que produce agotamiento iatrogénico de linfocitos como acompañamiento al efecto terapéutico deseado. Ejemplos de dichos regímenes incluyen, sin carácter restrictivo, a aquellos que implican la administración de uno o más agentes quimioterapéuticos citotóxicos en cuanto al tratamiento de la neoplasia, autoinmunidad, o preparatorio a la médula ósea o trasplante de órganos sólidos; y la administración de globulina antitímocítica (p. ej., Thymoglobulin®) que pretende agotar los linfocitos T para la supresión del rechazo de trasplante de órganos.

Sobre la base de la descripción contenida en la presente memoria, un primer aspecto de la presente invención proporciona un método para la identificación de un paciente que está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un régimen que agota los linfocitos, en el que el método comprende la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos en una muestra biológica obtenida del paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en la muestra, entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento.

En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo anti CD52 que agota los linfocitos para su uso en el tratamiento de una enfermedad inmunomediada en un paciente, en el que dicho tratamiento comprende:

(1) identificar si el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento mediante la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos en una muestra biológica obtenida del paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en la muestra, entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento; y

(2) (i) administrar el anticuerpo anti CD52 al paciente si el paciente no está en riesgo, o

(ii) administrar el anticuerpo anti CD52 al paciente si el paciente está en riesgo, y vigilar al paciente para el desarrollo de un trastorno del tiroides.

Los aspectos y las realizaciones adicionales de la presente invención están descritos en las reivindicaciones adjuntas.

Se espera que los métodos de la invención sean útiles para predecir el riesgo de un trastorno del tiroides que se desarrolla en un paciente después del tratamiento con cualquier régimen terapéutico que agota los linfocitos, mientras que otros tipos de células pueden o no agotarse con el tratamiento. La población total de linfocitos comprende subconjuntos, principalmente las células T, las células B y las células NK. En una realización, el régimen terapéutico que agota los linfocitos es un régimen dirigido contra los linfocitos T. En otra realización, es un régimen dirigido contra los linfocitos B. En otra realización, es un régimen dirigido contra las células NK. En otras realizaciones, es un régimen dirigido contra diversas combinaciones de los linfocitos T y B y las células NK (p. ej., T y B y NK; T y B pero no NK; etc.).

El conocimiento previo del riesgo de desarrollar trastornos del tiroides asociados con el agotamiento es útil para apoyar la decisión médica fundamentada que, p. ej., si debe o no iniciar un tratamiento con un régimen que agota los linfocitos en un paciente dado, en base al pronóstico de riesgo para el desarrollo de un trastorno del tiroides.

Las pruebas para determinar si existen anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea en el paciente se pueden realizar antes o después del tratamiento con el régimen que agota los linfocitos. Idealmente, la prueba de TPOA se realiza antes de una tanda de tratamiento dada de modo que el conocimiento de los riesgos potenciales del tratamiento pueda ser considerado por el médico y el paciente para tomar decisiones sobre el tratamiento. Sin

embargo, el conocimiento de la presencia de TPOA es también útil después del tratamiento como un indicador temprano para aumentar el riesgo.

Los trastornos autoinmunes del tiroides que pueden ocurrir como resultado de tratar a un paciente con una terapia que agota los linfocitos pueden manifestarse como hipotiroidismo o hipertiroidismo. Los diagnósticos comunes incluyen la enfermedad de Graves (también conocida como bocio difuso tóxico, la enfermedad de von Basedow o la enfermedad de Parry) y la tiroiditis autoinmune (también conocida como tiroiditis silenciosa o tiroiditis de Hashimoto) y combinaciones de las mismas.

Los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea generalmente se buscan en una muestra de sangre (normalmente suero o plasma) obtenida del paciente, pero se puede detectar en cualquier muestra biológica obtenida del paciente, que incluye la linfa, orina o tejido.

Como lo comprenderá un experto en la técnica, el método particular utilizado para detectar la presencia de anticuerpos contra la TPO no es una característica limitante de la invención. Diversos métodos para la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea son bien conocidos para los expertos en la técnica. Dichos métodos incluyen el uso de los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA, por su sigla en inglés), radioinmunoensayos (RIA, por su sigla en inglés), ensayos de hemaglutinación y otras técnicas que emplean una forma o fragmento de la proteína de la peroxidasa tiroidea como un objetivo para atraer y unir a los anticuerpos que se deben medir, y empleando cualquier método adecuado para detectar y tal vez cuantificar los anticuerpos unidos. Los diversos métodos descritos anteriormente y otros métodos similares también se pueden emplear para detectar anticuerpos reactivos con microsomas tiroideos, una fracción de tejido que se enriquece en la proteína de la enzima peroxidasa tiroidea, para obtener un resultado diagnóstico equivalente. Los anticuerpos antimicrosómicos son esencialmente equivalentes al TPOA. Otros métodos implican la medición de actividad de la enzima TPO, con la presencia y concentración del TPOA deducido por la inhibición de la actividad de la enzima TPO.

Descripción detallada de la invención

CAMMS223 es el nombre para un ensayo clínico de Fase 2 que investiga la seguridad y la eficacia de dos niveles de dosis de alemtuzumab frente a interferón beta-1a (Rebif®) en el tratamiento de pacientes con EM temprana, activa, recurrente-remitente. Se seleccionaron pacientes referidos para la participación en CAMMS223 para los anticuerpos del receptor de la hormona estimulante antitiroides (TSH) (en lo sucesivo, TSHRA) antes de la entrada y se excluyeron si eran positivos. También se probaron pacientes para los anticuerpos de la peroxidasa tiroidea (en lo sucesivo, TPOA) pero esto no influyó en su elegibilidad ni tratamiento. En total, se aleatorizaron 334 pacientes con IFN-beta-1a (44 mcg SC tres veces por semana), o altas (24 mg/día por vía intravenosa (IV)) o bajas (12 mg/día IV) dosis de alemtuzumab. Se administró alemtuzumab a diario durante 5 días en el Mes 0 y durante 3 días en el Mes 12 y, para algunos pacientes, una vez más en el Mes 24.

Durante los 3 años siguientes, se contaron los eventos adversos relacionados con el tiroides y todos los pacientes tenían hormonas relacionadas con el tiroides y los autoanticuerpos tiroideos probados en intervalos regulares: Se analizaron TSH, L-tiroxina (T3) y L-triiodotironina (T4) y TSHRA trimestralmente, y el anticuerpo de la peroxidasa tiroidea (TPOA) dos veces al año. Se analizaron los TPOA usando un kit disponible comercialmente, los anticuerpos Varelisa TPO, fabricados por Sweden Diagnostics y distribuidos por Somagen, número de catálogo 12396 (protocolo de prueba descrito en el Ejemplo 1).

Uno de los focos de los análisis fue la correlación entre las anomalías en varios parámetros de laboratorio relacionados con el tiroides. Se realizó el análisis provisional con un seguimiento medio de 2,2 años (1. ° cuartil = 2,0; 3.° = 2,5). Los eventos adversos (EA) relacionados con el tiroides y las anomalías de laboratorio ocurrieron en los 3 brazos de tratamiento (véase Compston et al., 2006, op cit.).

Según el análisis citado anteriormente, la proporción de pacientes tratados con alemtuzumab con EA clínicos del tiroides fue 11,1 % frente al 1,9 % en pacientes que recibieron IFN-beta-1a. Más EA del tiroides ocurrieron en el brazo de dosis bajas, pero esta diferencia entre las dosis de alemtuzumab no fue significativa. Se registraron enfermedad de Graves o hipertiroidismo en 14/216 pacientes tratados con alemtuzumab (6,5 %) y en 0/106 pacientes tratados con IFN beta-1a ($p < 0,0001$). Se hallaron TSHRA en 47/216 pacientes (21,8 %) después del alemtuzumab y 2/103 (1,9 %) después de IFN-beta-1a. Los marcadores de laboratorio de autoinmunidad del tiroides (TSHRA o TPOA) ocurrieron sin los EA clínicos del tiroides en 16,7 % de los pacientes después del tratamiento con alemtuzumab frente al 11,3 % de los pacientes tratados con IFN-beta-1a.

Como se describe en la presente memoria, se examinaron estos eventos relacionados con el tiroides en el contexto de las evaluaciones de laboratorio de referencia (pretratamiento) (véase el Ejemplo 1). Se halló que se registraron esos EA clínicos del tiroides para 17/176 pacientes tratados con alemtuzumab (9,7 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 5/16 pacientes (31,1 %) que obtuvieron resultados inicialmente positivos (riesgo relativo = 3,2, $p = 0,029$), y para 2/87 pacientes tratados con IFN-beta-1a (2,3 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 0/3 pacientes (0 %), que obtuvieron resultados inicialmente positivos. Sorprendentemente, el TSHRA se desarrolló solo en 24/176 pacientes tratados con alemtuzumab (13,6 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 9/16 pacientes (56,3 %) que obtuvieron resultados

inicialmente positivos (riesgo relativo = 4,1, $p < 0,0001$), y en 2/87 pacientes tratados con IFN-beta-1a (2,3 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 0/3 pacientes (0 %), que obtuvieron resultados inicialmente positivos.

5 Así, en un análisis retrospectivo entre pacientes con EM tratados con alemtuzumab, los individuos que tenían anticuerpos dirigidos contra la TPO en el momento o antes de su exposición inicial al alemtuzumab corrieron 3 o 4 veces un mayor riesgo de padecer trastornos del tiroides posteriores en comparación con las personas que al inicio habían obtenido resultados negativos para los anticuerpos anti TPO.

10 Debe observarse que la mayoría de los pacientes que desarrollaron anomalías del tiroides en estudio habían obtenido resultados negativos de los TPOA en la entrada. Así, la prueba del TPOA parece tener una especificidad bastante elevada, pero baja sensibilidad. Esto podría reflejar la sensibilidad del ensayo deficiente del TPOA o puede indicar que algunos pacientes están en riesgo de trastornos del tiroides relacionados con alemtuzumab a pesar de la ausencia del TPOA al inicio del estudio.

15 Por consiguiente, la descripción abarca métodos para la identificación de un paciente que está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un régimen que agota los linfocitos, que comprende determinar si los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea están presentes en el paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en el paciente entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento.

20 Los linfocitos son glóbulos blancos formados en el tejido linfático de un individuo y divididos en tres grupos principales: células T, células B y células NK. Así, en un aspecto, el régimen agota las células T. En otro aspecto, el régimen agota las células B. En otro aspecto, el régimen agota las células NK. En otro aspecto, el régimen agota diversas combinaciones de las células T y B y NK. El régimen incluye cualquier plan de tratamiento que da como resultado una eliminación parcial o completa de los linfocitos de un paciente durante o después del tratamiento. En una realización, el régimen comprende la administración de uno o más agentes citotóxicos (p. ej., fármacos). En una realización, el régimen comprende la administración de un agente que agota las células que expresan CD52 como un marcador superficial celular (es decir, células CD52 positivas).

25 Así, en un caso, la presente descripción abarca métodos para la identificación de un paciente que está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un agente que agota las células CD52 positivas, que comprende determinar si los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea están presentes en el paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en el paciente entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento.

30 En un aspecto particular, la descripción se refiere a un método para la identificación de un paciente con EM que está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un agente que agota las células CD52 positivas, que comprende determinar si los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea están presentes en el paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en el paciente entonces el paciente está en riesgo de desarrollar el trastorno del tiroides.

35 Tal como se usa en la presente, un "régimen que agota las células CD52 positivas" incluye cualquier régimen que agota, parcial o totalmente, las células humanas con el marcador de CD52. Por ejemplo, un régimen que agota las células CD52 positivas incluye, sin carácter limitativo, la administración de un anticuerpo, un ARN interferente pequeño o una pequeña molécula que reduce el recuento de las células portadoras de CD52 de la circulación de la sangre o los tejidos corporales.

40 En una realización particular, un agente que agota las células CD52 positivas es un anticuerpo que es específico para CD52. Un anticuerpo que es específico para CD52 es una molécula que se une de forma selectiva a CD52, pero no se une sustancialmente a otras moléculas en una muestra, p. ej., en una muestra biológica que contiene CD52. El término "anticuerpo" tal como se usa en la presente, se refiere a una inmunoglobulina o una parte de la misma y abarca cualquier polipéptido que comprende un sitio de unión del antígeno independientemente de la fuente, método de producción y otras características. El término incluye pero no se limita a anticuerpos policlonales, monoclonales, monoespecíficos, poliespecíficos, humanizados, humanos, de cadena simple, quiméricos, sintéticos, recombinantes, híbridos, mutados, conjugados e injertados con CDR. El término "sitio de unión del antígeno" se refiere a la parte de una molécula del anticuerpo que comprende la zona específicamente unida o complementaria a una parte o a la totalidad de un antígeno. Un sitio de unión del antígeno puede comprender una región variable de cadena ligera del anticuerpo (V_L) y una región variable de cadena pesada del anticuerpo (V_H). Uno o más dominios variables del anticuerpo puede proporcionar un sitio de unión del antígeno (p. ej., un fragmento del anticuerpo Fd que consiste en un dominio V_H , un fragmento del anticuerpo Fv que consiste en un dominio V_H y un dominio V_L , o un fragmento del anticuerpo scFv que consiste en un dominio V_H y un dominio V_L acompañado de un enlazador). El término "anticuerpo anti CD52" o "anticuerpo contra CD52," se refiere a cualquier anticuerpo que se une específicamente a por lo menos un epitopo de CD52.

Los diversos anticuerpos y partes de los mismos se pueden producir usando cualquiera de las técnicas (véase, p. ej., Kohler y Milstein, *Nature* 256:495-497 (1975); *Current Protocols in Immunology*, Coligan et al., (eds.) John Wiley

& Sons, Inc., Nueva York, NY (1994); Cabilly et al., patente estadounidense n.º 4.816.567; Cabilly et al., patente europea n.º 0.125.023 B1; Boss et al., patente estadounidense n.º 4.816.397; Boss et al., patente europea n.º 0.120.694 B1; Neuberger, M.S. et al., WO 86/01533; Neuberger, M.S. et al., patente europea n.º 0.194.276 B1; Winter, patente estadounidense n.º 5.225.539; Winter, patente europea n.º 0.239.400 B1; Queen et al., patente europea n.º 0 451 216 B1; y Padlan, E.A. et al., patente europea EP 0 519 596 A1; Newman, R. et al., *BioTechnology*, 10: 1455-1460 (1992); Ladner et al., patente estadounidense n.º 4.946.778; Bird, R.E. et al., *Science*, 242: 423-426 (1988)).

En una realización particular, el anticuerpo CD52 es alemtuzumab, un anticuerpo monoclonal humanizado derivado de un ADN recombinante que se dirige contra CD52. La secuencia de alemtuzumab (Campath-1H[®]), que incluye la secuencia de las tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR, por su sigla en inglés) contenida en la presente, se describe en la patente estadounidense n.º 5.846.534, en la que se describe un anticuerpo humanizado que se une con eficacia al antígeno CD52, así como se describe un método de tratamiento a un paciente humano con una malignidad linfóide con dicho anticuerpo. Además, se describen procedimientos para la preparación y prueba de dicho anticuerpo.

Además de esclerosis múltiple (recurrente-remitente y primaria y secundaria progresiva), las condiciones que se han tratado con alemtuzumab incluyen malignidades hematológicas tales como leucemia linfocítica crónica de células B (LLC-B), linfoma no de Hodgkin y leucemias, así como una variedad de trastornos inmunomediados que incluyen la enfermedad hospedante frente a injerto, el rechazo de trasplante de órganos, vasculitis, uveitis, escleroderma, citopenias autoinmunes y artritis reumatoide. Sin embargo, el método de la invención no se limita a realizarse en pacientes con estas enfermedades particulares. Más bien, es útil para pacientes con cualquier enfermedad, siempre y cuando dicha enfermedad sea susceptible de tratamiento con un agente que agote los linfocitos, y dicho tratamiento se correlaciona con el desarrollo de un trastorno del tiroides en por lo menos algunos pacientes.

Los trastornos autoinmunes del tiroides que pueden ocurrir como resultado de tratar a un paciente con una terapia que agota los linfocitos pueden manifestarse como hipotiroidismo o hipertiroidismo. Los diagnósticos comunes incluyen la enfermedad de Graves (también conocida como bocio difuso tóxico, la enfermedad de von Basedow o la enfermedad de Parry) y la tiroiditis autoinmune (también conocida como tiroiditis silenciosa o tiroiditis de Hashimoto) y combinaciones de las mismas.

Las pruebas para determinar si existen anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea en un paciente se pueden realizar antes o después del tratamiento con el régimen que agota los linfocitos. Idealmente, la presencia de los anticuerpos se determina antes de una tanda inicial de tratamiento de modo que el médico y el paciente puedan considerar el conocimiento de los riesgos potenciales del tratamiento y sopesar con los beneficios del tratamiento. Sin embargo, también será útil para llevar a cabo los métodos de la invención tras el tratamiento inicial de un paciente, p. ej., para determinar el riesgo/beneficio de una tanda posterior del tratamiento o para monitorear mayor riesgo del desarrollo de un trastorno del tiroides en cualquier momento después del tratamiento.

Una variedad de métodos para la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea son conocidos para aquellos expertos en la técnica. En una realización particular, se puede utilizar un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Premawardhana, L. et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 85:71-75 (2000); Stagnaro-Green, A., et al., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 74(3):645-653 (1992)). En una aplicación común de este método, se cubre un sustrato de plástico con cantidad estandarizada de la proteína de la enzima peroxidasa tiroidea purificada. La muestra de sangre que se debe analizar precisamente se diluye y aplica al sustrato recubierto por un período de tiempo, durante el cual los anticuerpos TPOA en la muestra de sangre se unirán al plástico debido a su interacción con la TPO que se adhiere a este sustrato. Tras un paso de lavado estandarizado para eliminar todos los componentes sanguíneos que no se unen a la TPO, se agrega un reactivo que se reconocerá y se adherirá a cualquier anticuerpo unido, notablemente incluido el TPOA. Este reactivo está diseñado para tener una doble función: además del enlace con los anticuerpos, puede proporcionar una señal (generalmente cromogénica o quimioluminiscencia) proporcional a la cantidad unida. Así, la señal indica indirectamente la cantidad del TPOA en la muestra original.

Una variedad de métodos para la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea son conocidos por aquellos expertos en la técnica, y algunos se han utilizado ampliamente, tales como el radioinmunoensayo (Kung, V.T. et al., *Clin. Chem.*, 27(1):39-42(1981); el ensayo de hemaglutinación (Marazuela, et al., *supra*); y el inmunoensayo Immulite 2000 Anti-TPO Ab con detección quimioluminiscente, vendido por Siemens Medical Solutions Diagnostics. Estas y otras técnicas tienen en común que emplean una forma o fragmento de la proteína peroxidasa tiroidea como un objetivo para atraer y unir a los anticuerpos que se deben medir, y empleando cualquier método adecuado para detectar y tal vez cuantificar los anticuerpos unidos. En otra realización, los diversos métodos descritos anteriormente y otros métodos similares también se emplean para detectar anticuerpos reactivos con microsomas tiroideos, una fracción de tejido que se enriquece en la proteína de la enzima peroxidasa tiroidea.

En los métodos de la presente invención, la presencia de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea en un paciente puede determinarse analizando una muestra biológica obtenida del paciente. Tal como se usa en la presente, una "muestra" incluye cualquier muestra biológica adecuada que podría incluir anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea. Por ejemplo, una muestra incluye tejidos, células, fluidos biológicos y extractos de los mismos

obtenidos (p. ej., aislados) de un individuo. Los fluidos biológicos incluyen sangre (p. ej., sangre entera, glóbulos rojos concentrados), suero, plasma, linfa, orina y semen.

Los métodos descritos en la presente memoria además pueden comprender la comparación de la cantidad (nivel, título) de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea (TPOA) presente en el paciente con la cantidad del TPOA en una muestra de control adecuada. Por ejemplo, se puede tomar la muestra de control de un individuo que no cree estar en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides (p. ej., una muestra de un individuo sano). Por otra parte, podría tomarse la muestra de control de un paciente con la misma condición de la enfermedad o similar que se administra un régimen de tratamiento alternativo que no es el que agota los linfocitos, cuyo régimen alternativo no está asociado a un mayor riesgo de trastornos del tiroides. Por otra parte, la medición del TPOA se puede comparar con un estándar validado que no se basa en una muestra biológica de control, p. ej., un diluyente u otra disolución de la que no se espera un resultado positivo.

Los siguientes ejemplos proporcionan realizaciones ilustrativas de la invención. Una persona con experiencia ordinaria en la técnica reconocerá las numerosas modificaciones y variaciones que se pueden realizar. Los ejemplos no limitan de modo alguno la invención.

Ejemplo 1 Método para el ensayo de anticuerpos reactivos con peroxidasa tiroidea

Se empleó un método cualitativo que consistía en un inmunoensayo de la enzima no competitiva indirecta específica para la proteína TPO para las mediciones del TPOA descritas en el Ejemplo 2. El método consistía en el uso de una prueba de anticuerpos de TPO del kit comercialmente disponible, fabricados por Phadia GmbH (antiguamente Sweden Diagnostics) y distribuidos por Somagen, número de catálogo 12396. En resumen, las muestras de suero del paciente se diluyeron 1/100 utilizando el diluyente proporcionado y 100 microlitros de la muestra diluida se colocaron en un pocillo de plástico previamente recubierto con la proteína purificada TPO. Se dejó incubar la muestra durante 30 minutos y luego se lavó 3 a 5 veces con 300 microlitros de disolución de lavado proporcionada. A cada pocillo luego se agregó 100 microlitros de un reactivo proporcionado que incorpora la enzima peroxidasa de rábano (HRP, por su sigla en inglés) ligada covalentemente a un anticuerpo específico del isotipo de inmunoglobulina G (IgG). Tras otro paso de incubación de 30 minutos, se lavó el conjugado de 3 a 5 veces con 300 microlitros de disolución de lavado proporcionada. A cada pocillo luego se agregó 100 microlitros de disolución que contiene 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina, que es un sustrato eficaz para una reacción química catalizada por la HRP que genera una señal visible colorimétrica proporcional a la cantidad del conjugado HRP adherente y la duración de la reacción. Tras un paso de incubación de 10 minutos, la reacción colorimétrica se terminó mediante la adición de 50 microlitros de una disolución de ácido sulfúrico. Se midió la señal colorimétrica con un espectrofotómetro para determinar la absorbancia a una longitud de onda de 450 nm entre 10 a 30 minutos después de la adición de la disolución de ácido sulfúrico. Los resultados se interpretaron cualitativamente ya sea negativos (absorbancia del control positivo/absorbancia de la muestra <1), positivos (absorbancia del control positivo/absorbancia de la muestra >1,4), o equívoco (relación >1,0 <1,4).

Ejemplo 2 Predicción de riesgo de autoanticuerpos para eventos adversos del tiroides después del tratamiento con Alemtuzumab para la esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR, por su sigla en inglés)

El objetivo de este estudio fue examinar los anticuerpos de la peroxidasa tiroidea (TPOA) para el tratamiento previo como predictor de riesgo para trastornos autoinmunes del tiroides relacionados con alemtuzumab dentro de 2 años de la primera exposición al fármaco. En relación con el ensayo clínico CAMMS223 antes descrito, se probó TSH, sin T3, sin T4 y TSHRA trimestralmente, y la peroxidasa antitiroidea (TPOA) dos veces al año en todos los pacientes, utilizando el protocolo y el kit de pruebas descritos en el Ejemplo 1.

Tal como se establece en la tabla a continuación, con un seguimiento medio de 2,2 años, se registraron EA del tiroides para 17/176 pacientes tratados con alemtuzumab (9,7 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio del estudio frente a 5/16 pacientes (31,1 %) que obtuvieron inicialmente resultados positivos (RR = 3,2, p = 0,029), y para 2/87 pacientes tratados con IFN-beta-1a (2,3 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio del estudio frente a 0/3 pacientes (0 %), que obtuvieron inicialmente resultados positivos. Sorprendentemente, el TSHRA se desarrolló solo en 24/176 pacientes tratados con alemtuzumab (13,6 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 9/16 pacientes (56,3 %) que obtuvieron resultados inicialmente positivos (RR = 4,1, p<0,0001), y en 2/87 pacientes tratados con IFN-beta-1a (2,3 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 0/3 pacientes (0 %), que obtuvieron resultados inicialmente positivos.

Tabla 1

		Número	%
Pacientes evaluables con Alemtuzumab		192	100
Anti TPO- de referencia		176	91,7
	EA del tiroides	17 de 176	9,7
	TSH-R Ab	24 de 176	13,6
Anti TPO+ de referencia		16	8,3
	EA del tiroides	5 de 16	31,3
	TSH-R Ab	9 de 16	56,3

Es evidente de estos datos que la presencia del TPOA al inicio probablemente confiere mayor riesgo para los trastornos del tiroides después del tratamiento con alemtuzumab.

5 Ejemplo 3 Predicción de riesgo de autoanticuerpos para eventos adversos del tiroides después del tratamiento con Alemtuzumab para la esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR)

El análisis preliminar de los datos de CAMMS223, presentado en el Ejemplo 2, se extendió mediante el análisis de los datos del mismo ensayo después de un seguimiento medio de 3 años. Tal como se establece en la tabla a continuación, se registraron EA del tiroides dentro del plazo de 3 años a partir de la primera exposición al alemtuzumab para 35/182 pacientes tratados con alemtuzumab (19,2 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 8/16 pacientes (50 %) que obtuvieron resultados inicialmente positivos (RR = 2,60, p = 0,0087), y para 2/93 pacientes tratados con IFN-beta-1a (2,2 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio del estudio frente a 0/6 pacientes (0 %), que obtuvieron resultados inicialmente positivos. Sorprendentemente, el TSHRA se desarrolló solo en 46/182 pacientes tratados con alemtuzumab (25,3 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 10/16 pacientes (62,5 %) que obtuvieron resultados inicialmente positivos (RR = 2,47, p<0,0031), y en 2/93 pacientes tratados con IFN-beta-1a (2,2 %) que obtuvieron resultados negativos para el TPOA al inicio frente a 0/3 pacientes (0 %), que obtuvieron resultados inicialmente positivos.

Tabla 2

		Número	%
Pacientes evaluables con Alemtuzumab		198	100
Anti TPO- de referencia		182	91,9
	EA del tiroides	35 de 182	19,2
	TSH-R Ab	46 de 182	25,3
Anti TPO+ de referencia		16	8,1
	EA del tiroides	8 de 16	50
	TSH-R Ab	10 de 16	62,5

Estos datos a mayor plazo continúan apoyando la conclusión de que la presencia del TPOA al inicio probablemente confiere mayor riesgo para los trastornos del tiroides después del tratamiento con alemtuzumab.

Si bien esta invención se ha mostrado y descrito en particular con referencia a sus realizaciones de ejemplo, los expertos en la técnica comprenderán que es posible realizar en ellas diversos cambios de forma y en cuanto a detalles.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para la identificación de un paciente que está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento con un régimen que agotan los linfocitos, en el que el método comprende la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos en una muestra biológica obtenida del paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en la muestra, entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento.
2. El método de la reivindicación 1, en el que el régimen que agota los linfocitos comprende la administración de un agente que agota las células CD52 positivas.
- 10 3. El método de la reivindicación 2, en el que el agente que agota las células CD52 positivas es un anticuerpo que se une específicamente a CD52.
4. El método de la reivindicación 3, en el que el anticuerpo que se une específicamente a CD52 comprende una o varias CDR con una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una CDR de alemtuzumab.
5. El método de la reivindicación 3, en el que el anticuerpo es alemtuzumab.
- 15 6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la presencia de anticuerpos en la muestra se determina mediante la comparación de la cantidad de anticuerpos en la muestra con la cantidad de anticuerpos en una muestra de control.
7. El método de la reivindicación 6, en el que se toma la muestra de control de una persona que no cree estar en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides.
- 20 8. El método de la reivindicación 6, en el que la muestra de control es un estándar validado que no se basa en una muestra biológica.
9. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el paciente tiene esclerosis múltiple.
10. El método según la reivindicación 9, en el que la esclerosis múltiple es esclerosis múltiple recurrente-remite.
- 25 11. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el paciente tiene una enfermedad inmunomediada seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad hospedante frente a injerto, artritis reumatoide, vasculitis, rechazo de trasplante de órganos, uveítis, esclerodermia y citopenia autoinmune.
12. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 y 8, en el que se administra el régimen en relación con un procedimiento de trasplante de médula ósea.
- 30 13. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan antes del tratamiento con el régimen.
14. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan después de por lo menos una tanda del tratamiento con el régimen.
- 35 15. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que el trastorno del tiroides se selecciona del grupo que consiste en hipotiroidismo, hipertiroidismo, enfermedad de Graves, tiroiditis autoinmune y una combinación de los mismos.
- 40 16. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan mediante un ensayo seleccionado del grupo que consiste en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, un radioinmunoensayo, un ensayo de hemaglutinación y un ensayo que emplea una forma o un fragmento de la peroxidasa tiroidea como un objetivo que pretende atraer y unir a los anticuerpos.
17. El uso de un anticuerpo anti CD52 que agota los linfocitos en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inmunomediada en un paciente, en el que dicho tratamiento comprende:
 - 45 (1) identificar si el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento mediante la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos en una muestra biológica obtenida del paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en la muestra, entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento; y
 - (2)
 - (i) administrar el anticuerpo anti CD52 al paciente si el paciente no está en riesgo, o

(ii) administrar el anticuerpo anti CD52 al paciente si el paciente está en riesgo, y vigilar al paciente para el desarrollo de un trastorno del tiroides.

18. Un anticuerpo anti CD52 que agota los linfocitos para su uso en el tratamiento de una enfermedad inmunomediada en un paciente, en el que dicho tratamiento comprende:

5 (1) identificar si el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento mediante la detección de anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos en una muestra biológica obtenida del paciente, en el que si los anticuerpos están presentes en la muestra, entonces el paciente está en riesgo de desarrollar un trastorno del tiroides después del tratamiento; y

(2) (i) administrar el anticuerpo anti CD52 al paciente si el paciente no está en riesgo, o

10 (ii) administrar el anticuerpo anti CD52 al paciente si el paciente está en riesgo, y vigilar al paciente para el desarrollo de un trastorno del tiroides.

19. El uso de la reivindicación 17, o el anticuerpo anti CD52 para su uso según la reivindicación 18, en los que el anticuerpo anti CD52 agota las células CD52 positivas.

15 20. El uso o el anticuerpo anti CD52 para su uso según la reivindicación 19, en los que el anticuerpo anti CD52 es un anticuerpo humano o humanizado.

21. El uso o el anticuerpo anti CD52 para su uso según la reivindicación 20, en los que el anticuerpo anti CD52 comprende una o varias CDR con una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una CDR de alemtuzumab.

20 22. El uso o el anticuerpo anti CD52 para su uso según la reivindicación 20, en los que el anticuerpo es alemtuzumab.

23. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19 a 22, en el que el paciente tiene esclerosis múltiple.

24. El uso según la reivindicación 23, en el que la esclerosis múltiple es esclerosis múltiple recurrente-remitente.

25 25. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19 a 22, en el que el paciente tiene una enfermedad inmunomediada seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad hospedante frente a injerto, artritis reumatoide, vasculitis, rechazo de trasplante de órganos, uveitis, esclerodermia y citopenia autoinmune.

26. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19 a 22, en el que se administra el anticuerpo anti CD52 en relación con un procedimiento de trasplante de médula ósea.

27. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19 a 26, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan antes del tratamiento.

30 28. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19 a 26, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan después de por lo menos una tanda del tratamiento.

29. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19 a 28, en el que el trastorno del tiroides se selecciona del grupo que consiste en hipotiroidismo, hipertiroidismo, enfermedad de Graves, tiroiditis autoinmune y una combinación de los mismos.

35 30. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 y 19 a 29, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan mediante un ensayo seleccionado del grupo que consiste en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, un radioinmunoensayo, un ensayo de hemaglutinación y un ensayo que emplea una forma o un fragmento de la peroxidasa tiroidea como un objetivo que pretende atraer y unir a los anticuerpos.

40 31. El anticuerpo anti CD52 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22, en el que el paciente tiene esclerosis múltiple.

32. El anticuerpo anti CD52 para su uso según la reivindicación 31, en el que la esclerosis múltiple es esclerosis múltiple remitente en brotes.

45 33. El anticuerpo anti CD52 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22, en el que el paciente tiene una enfermedad inmunomediada seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad hospedante frente a injerto, artritis reumatoide, vasculitis, rechazo de trasplante de órganos, uveitis, esclerodermia y citopenia autoinmune.

34. El anticuerpo anti CD52 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22, en el que se administra el anticuerpo anti CD52 en relación con un procedimiento de trasplante de médula ósea.

35. El anticuerpo anti CD52 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22 y 31 a 34, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan antes del tratamiento.
- 5 36. El anticuerpo anti CD52 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22 y 31 a 34, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan después de por lo menos una tanda del tratamiento.
37. El anticuerpo anti CD52 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22 y 31 a 36, en el que el trastorno del tiroides se selecciona del grupo que consiste en hipotiroidismo, hipertiroidismo, enfermedad de Graves, tiroiditis autoinmune y una combinación de los mismos.
- 10 38. El anticuerpo anti CD52 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 18 a 22 y 31 a 37, en el que los anticuerpos dirigidos contra la peroxidasa tiroidea o los microsomas tiroideos se detectan mediante un ensayo seleccionado del grupo que consiste en un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, un radioinmunoensayo, un ensayo de hemaglutinación y un ensayo que emplea una forma o un fragmento de la peroxidasa tiroidea como un objetivo que pretende atraer y unir a los anticuerpos.