

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 651**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/574** (2006.01)

**G01N 33/74** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.09.2012 PCT/US2012/054137**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2013 WO13066491**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.09.2012 E 12766763 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2017 EP 2753933**

54 Título: **Uso del estado del virus del papiloma humano en el establecimiento del uso de un agente que se une a EGFr en el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

**09.09.2011 US 201161533082 P**

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

**27.10.2017**

73 Titular/es:

**AMGEN INC. (100.0%)  
One Amgen Center Drive  
Thousand Oaks, CA93120-1789, US**

72 Inventor/es:

**WIEZOREK, JEFFREY, SCOTT y  
BACH, BRUCE, ALLEN**

74 Agente/Representante:

**MILTENYI, Peter**

ES 2 639 651 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

Uso del estado del virus del papiloma humano en el establecimiento del uso de un agente que se une a EGFr en el tratamiento del cáncer

## Campo de la invención

5 La presente divulgación se refiere a métodos de uso del estado negativo de virus del papiloma humano (VPH) como indicador predictivo en pacientes que tienen al menos un tipo de cáncer, incluyendo cánceres caracterizados por la presencia de un tumor, tal como un tumor de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), particularmente en el contexto de un régimen terapéutico que implica un agente de unión específica anti-receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFr). La presente divulgación también se refiere a métodos de tratamiento de  
10 pacientes que tienen un tumor, tal como un tumor de HNSCC, usando un agente de unión específica anti-EGFr, y a métodos de estratificación de tales pacientes basándose en el estado negativo de VPH. El agente de unión específica anti-EGFr puede ser, por ejemplo, un anticuerpo, tal como un anticuerpo monoclonal.

## Antecedentes de la invención

15 Determinadas aplicaciones de los anticuerpos monoclonales en la terapia contra el cáncer se basan en la capacidad del anticuerpo para suministrar específicamente a los tejidos cancerosos funciones efectoras citotóxicas tales como isotipos de potenciación inmunitaria, toxinas o fármacos. Otro enfoque alternativo es utilizar anticuerpos monoclonales para afectar directamente a la supervivencia de las células tumorales privándolas de señales de proliferación extracelulares esenciales, tales como las mediadas por factores de crecimiento a través de sus receptores celulares. Una diana atractiva en este enfoque es el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFr),  
20 que se une a EGF y también puede unirse a factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ) (véanse, por ejemplo, Ullrich *et al*, Cell 61:203-212, 1990; Baselga *et al*, Pharmacol Ther. 64: 127-154, 1994; Mendelsohn *et al*, en Biologic Therapy of Cancer 607-623, Filadelfia: J.B. Lippincott Co., 1995; y Fan *et al*, Curr. Opin. Oncol. 10: 67-73, 1998). La unión de EGF o TGF $\alpha$  a EGFr, una glicoproteína de la superficie celular transmembrana de 170 kDa, desencadena una cascada de acontecimientos bioquímicos celulares, incluyendo autofosforilación de EGFr e internalización, lo  
25 que culmina en proliferación celular (véase, por ejemplo, Ullrich *et al*, Cell 61:203-212, 1990).

Se han generado anticuerpos monoclonales específicos para EGFr humano, a partir de ratones y ratas (véanse, por ejemplo, Baselga *et al*, Pharmacol. Ther. 64: 127-154, 1994; Mendelsohn *et al*, en Biologic Therapy of Cancer págs. 607-623, Filadelfia: J.B. Lippincott Co., 1995; Fan *et al*, Curr. Opin. Oncol. 10: 67-73, 1998; Modjtahedi *et al*, Intl. J. Oncology 4: 277-296, 1994). Algunos de estos anticuerpos, tales como los anticuerpos de ratón 108, 225 (véase, por  
30 ejemplo, Aboud-Pirak *et al*, J. Natl. Cancer Inst. 80: 1605-1611, 1988) y 528 (véanse, por ejemplo, Baselga *et al*, Pharmacol. Ther. 64: 127-154, 1994; Mendelsohn *et al*, en Biologic Therapy of Cancer págs. 607-623, Filadelfia: J.B. Lippincott Co., 1995) o los anticuerpos monoclonales ICR16, ICR62 y ICR64 de rata (véanse, por ejemplo, Modjtahedi *et al*, Intl. J. Oncology 4: 277-296, 1994; Modjtahedi *et al*, Br. J. Cancer 67:247-253, 1993; Modjtahedi *et al*, Br. J. Cancer 67: 254-261, 1993), se evaluaron extensamente para determinar su capacidad para afectar al crecimiento tumoral en modelos de ratón de xenoinjerto. Una versión quimérica del anticuerpo monoclonal 225 (C225), en el que las regiones variables de anticuerpo de ratón están unidas a regiones constantes humanas, presentaba una actividad antitumoral *in vivo* mejorada pero solo a altas dosis (véase, por ejemplo, Goldstein *et al*, Clinical Cancer Res. 1: 1311-1318, 1995; Prewett *et al*, J. Immunother. Emphasis Tumor Immunol. 19: 419-427, 1996). Este anticuerpo se convirtió en última instancia en cetuximab (Erbix®; Eli Lilly).

40 Determinados avances en las técnicas biológicas han hecho posible producir anticuerpos anti-EGFr completamente humanos. Usando ratones transgénicos para genes de inmunoglobulinas humanas (tecnología Xenomouse®, Abgenix, Inc.), se desarrollaron anticuerpos humanos específicos para EGFr humano (véanse, por ejemplo, Mendez, Nature Genetics, 15: 146-156, 1997; Jakobovits, Adv. Drug Deliv. Rev., 31(1-2): 33-42, 1998; Jakobovits, Expert Opin. Invest. Drugs, 7(4): 607-614, 1998; Yang *et al*, Crit. Rev. Oncol. Hematol. 38(1): 17-23, 2001; documento W098/24893; documento WO 98/50433). Se ha mostrado que un anticuerpo de este tipo, panitumumab (Vectibix®, Amgen Inc), un anticuerpo monoclonal de IgG2 humano con una afinidad de  $5 \times 10^{-11}$  M por EGFr humano, bloquea la unión de EGF al EGFr, bloqueando la señalización del receptor, e inhibiendo la activación y proliferación de células tumorales *in vitro* (véase, por ejemplo, el documento W098/50433; véase, por ejemplo, la patente estadounidense n.º 6.235.883). Estudios en ratones atímicos han demostrado que panitumumab también tiene actividad *in vivo*, no solo previniendo la formación de xenoinjertos de carcinoma epidermoide humano A431 en ratones atímicos, sino también erradicando xenoinjertos tumorales de A431 grandes ya establecidos (véanse, por  
45 ejemplo, Yang *et al*, Crit. Rev. Oncol. Hematol. 38(1): 17-23, 2001; Yang *et al*, Cancer Res. 59(6): 1236-43, 1999). Se ha considerado panitumumab para el tratamiento de carcinoma renal, adenocarcinoma colorrectal, cáncer de próstata y carcinoma de pulmón escamoso de células no pequeñas, entre otros cánceres (véase, por ejemplo, la publicación de patente estadounidense n.º 2004/0033543). Panitumumab está aprobado por la US Food & Drug Administration para tratar a determinados pacientes con cáncer colorrectal metastásico.  
55

Los virus del papiloma inducen hiperproliferaciones benignas, displásicas y malignas de la piel y el epitelio mucoso (véanse, por ejemplo, Mansur y Androphy, (1993) Biochim Biophys Acta 1155:323-345; Pfister (1984) Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 99: 111-181; y Broker *et al*. (1986) Cancer Cells 4: 17-36, para revisiones de los aspectos

moleculares, celulares y clínicos de los virus del papiloma). Mientras que la mayoría de las lesiones epiteliales inducidas por VPH son benignas, las lesiones que surgen de determinados tipos de virus del papiloma, por ejemplo, VPH-16 y VPH-18, pueden experimentar progresión maligna.

5 El papel de VPH en el desarrollo y la historia natural de diversos cánceres, incluyendo cánceres de cabeza y cuello, se ha estudiado. Véanse, por ejemplo, Joseph & Pai, (2011) ASCO; Lassen *et al.*, (2009) J Clin Onc. 27: 1992-98; Perrone *et al.*, (2006) Human Cancer Biol. 12:6643-6651; Stetlow *et al.*, (2010) Am J Surg. Path. 34:e15-e24; Ihloff *et al.*, (2010) Oral Onc. 46:705-11; Klussman *et al.*, (2003) Am J Path. 162:747-53. Más particularmente, Lassen *et al.* demuestran que p16<sup>INK4A</sup> se correlaciona con la infección por VPH y por tanto presenta un efecto de pronóstico en  
10 pacientes con HNSCC positivos para VPH. Perrone *et al.* demostraron que hay diversas formas de HNSCC, incluyendo HNSCC asociado a VPH y HNSCC dirigido por el medio ambiente; cada una de estas formas de HNSCC muestra marcadas diferencias en cuanto al estado de p53 y amplificación del gen de EGFr. Stetlow *et al.* describieron los parámetros histopatológicos en pacientes con HNSCC positivos para VPH. Klussman *et al.* demostraron la separación molecular e histopatológica entre pacientes con HNSCC positivos para VPH y negativos para VPH. Finalmente, Ihloff *et al.* revisaron estudios clínicos recientes que apoyan la idea de que el estado de  
15 tumor positivo para VPH puede servir como factor de pronóstico asociado en pacientes con HNSCC. De manera similar, Tribius *et al.*, Cancer Letters, vol. 204, n.º 2, 2 de febrero de 2001, páginas 71-79, comentaron que pacientes con cáncer orofaríngeo mostraban una mejor supervivencia cuando tenían tumores positivos para VPH.

Se ha observado que los pacientes positivos para VPH con HNSCC localmente avanzado presentan un espectro  
20 diferente de mutaciones en el ADN, y un mejor pronóstico que pacientes con HNSCC negativos para VPH. Los estudios a los que se hace referencia pueden apuntar conjuntamente o no a un papel de pronóstico del estado de VPH en pacientes con HNSCC pero, independientemente de si el estado de VPH es o no un indicador de pronóstico fiable, hasta la presente divulgación no se ha comentado el estado de VPH como indicador predictivo en pacientes con HNSCC para un fármaco, por ejemplo, panitumumab o cetuximab, ni ha habido ninguna demostración de un efecto potenciado de un fármaco, por ejemplo, panitumumab o cetuximab, sobre la supervivencia global y/o  
25 supervivencia libre de progresión de pacientes con HNSCC negativos para VPH.

En algunos ensayos, se ha mostrado que inhibidores de EGFr generan un beneficio de supervivencia suficiente incluso en poblaciones no seleccionadas, pero en otras no hubo un beneficio sustancial. Incluso en el caso de algunos inhibidores de EGFr aprobados, se ha vuelto más y más claro que pruebas eficaces y fiables son  
30 beneficiosas en la identificación de los pacientes que podrían beneficiarse significativamente del tratamiento con inhibidores de EGFR y los pacientes que probablemente no se beneficiarían significativamente de tal terapia. Véase, por ejemplo, Ladanyi *et al.*, Mod Pathol. Mayo de 2008; 21 supl. 2:S 16-22. Tal como se describe en el presente documento, el estado de VPH de un tumor en pacientes con HNSCC puede servir como indicador de este tipo. Según la presente divulgación, se ha encontrado ahora que inhibidores de EGFr (tales como panitumumab) mejoran la supervivencia libre de progresión y supervivencia global de pacientes que tienen tumores negativos para VPH,  
35 particularmente tumores de HNSCC. Consecuente con estos datos, la presente divulgación también se refiere al examen de un paciente para determinar si la administración de un inhibidor de EGFr al paciente proporcionará un beneficio terapéutico.

## Sumario

La presente invención se refiere a los siguientes puntos:

- 40 1. Un método de predicción de si un paciente que tiene un tumor se beneficiará de un tratamiento que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, que comprende determinar si el tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH, en el que si el tumor del paciente es negativo para VPH, se predice que el paciente se beneficia del tratamiento con un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, en el que el agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr es un anticuerpo frente a EGFr.
- 45 2. El método del punto 1, en el que la determinación comprende determinar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra de tumor obtenida del paciente, en el que la presencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es positivo para VPH y la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.
3. El método del punto 1, en el que el anticuerpo frente a EGFr es panitumumab.
- 50 4. El método del punto 2, en el que la determinación de la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor comprende realizar un ensayo de inmunohistoquímica (IHC) para identificar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra del tumor.
5. El método del punto 1, en el que el tumor es un tumor localmente avanzado o un tumor metastásico recurrente; preferiblemente en el que el tumor se selecciona del grupo que consiste en un tumor orofaríngeo, un tumor de laringe, un tumor de la cavidad oral y un tumor de la hipofaringe.
- 55 6. Un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para su uso en un método de prolongación de la supervivencia global y/o libre de progresión de un paciente que tiene un tumor que se ha determinado que es negativo para VPH, en el que se determina que el tumor es negativo para VPH determinando la

presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor obtenido del paciente, en el que la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.

5 7. Un anticuerpo monoclonal que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que se ha determinado que es negativo para VPH, en el que se determina que el tumor es negativo para VPH determinando la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor obtenido del paciente, en el que la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.

8. El anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según el punto 6 ó 7, en el que el anticuerpo frente a EGFr es panitumumab.

10 9. El anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según el punto 6 ó 7, en el que la determinación de la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor comprende realizar un ensayo de inmunohistoquímica (IHC) para identificar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra del tumor.

15 10. El anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según el punto 6 ó 7, en el que el tumor es un tumor localmente avanzado o un tumor metastásico recurrente; preferiblemente en el que el tumor se selecciona del grupo que consiste en un tumor orofaríngeo, un tumor de laringe, un tumor de la cavidad oral y un tumor de la hipofaringe.

11. El anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según el punto 6 ó 7, en el que se usa quimioterapia además del anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.

12. Un método de estratificación de una población de pacientes que tienen un tumor que comprende:

(a) determinar si el tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH; y

20 (b) seleccionar pacientes cuyos tumores son negativos para VPH para el tratamiento con una terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.

13. El método según el punto 12, en el que la determinación comprende determinar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor obtenido del paciente, en el que la presencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es positivo para VPH y la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.

25 14. El método del punto 12, en el que el agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr es un anticuerpo frente a EGFr; preferiblemente en el que el anticuerpo frente a EGFr es panitumumab.

15. El método del punto 12, en el que la determinación de la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor comprende realizar un ensayo de inmunohistoquímica (IHC) para identificar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra del tumor.

30 16. El método del punto 12, en el que el tumor es un tumor localmente avanzado o un tumor metastásico recurrente; preferiblemente en el que el tumor se selecciona del grupo que consiste en un tumor orofaríngeo, un tumor de laringe, un tumor de la cavidad oral y un tumor de la hipofaringe.

### Breve descripción de las figuras

35 La figura 1 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier que muestra el efecto sobre la supervivencia global de pacientes que reciben panitumumab y quimioterapia frente a quimioterapia sola en sujetos negativos para VPH.

La figura 2 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier que muestra el efecto sobre la supervivencia global de pacientes que reciben panitumumab y quimioterapia frente a quimioterapia sola en sujetos positivos para VPH.

40 La figura 3 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier que muestra el efecto sobre la supervivencia libre de progresión de pacientes que reciben panitumumab y quimioterapia frente a quimioterapia sola en sujetos negativos para VPH.

La figura 4 es una curva de supervivencia de Kaplan-Meier que muestra el efecto sobre la supervivencia libre de progresión de pacientes que reciben panitumumab y quimioterapia frente a quimioterapia sola en sujetos positivos para VPH.

La figura 5 es un gráfico que muestra el efecto del estado de VPH sobre la supervivencia global.

45 La figura 6 es un gráfico que muestra el efecto del estado de VPH sobre la supervivencia libre de progresión.

### Descripción detallada

Los encabezamientos de sección usados en el presente documento son para fines de organización solo y no han de interpretarse como limitativos de la materia descrita.

## Definiciones

A menos que se defina otra cosa, los términos científicos y técnicos usados en relación con la presente invención y divulgación tendrán los significados que entienden comúnmente los expertos habituales en la técnica. Además, a menos que el contexto requiera otra cosa, los términos en singular incluirán los plurales y los términos en plural incluirán el singular.

Generalmente, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y las técnicas de cultivo tisular y celular, biología molecular y química e hibridación de proteínas y oligo o polinucleótidos descritas en el presente documento son las bien conocidas y comúnmente usadas en la técnica. Se usan técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos y cultivo y transformación tisular (por ejemplo, electroporación, lipofección). Se realizan reacciones enzimáticas, técnicas de purificación y analíticas según las especificaciones de proveedor del servicio o el fabricante o tal como se lleva a cabo comúnmente en la técnica o tal como se describe en el presente documento. Las técnicas y los procedimientos precedentes se realizan generalmente según métodos convencionales bien conocidos en la técnica y tal como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se mencionan y comentan a lo largo de toda la presente memoria descriptiva. Véase, por ejemplo, Sambrook *et al*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2<sup>a</sup> ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)). Las nomenclaturas utilizadas en relación con, y los procedimientos y las técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica de síntesis y química médica y farmacéutica descritas en el presente documento son los bien conocidos y comúnmente usados en la técnica. Se usan técnicas convencionales para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y administración, y tratamiento de pacientes.

Siguiendo la convención estándar, tal como se usan en el presente documento los términos “un” y “una” significan “uno o más” a menos que el contexto o expresiones explícitas dicten otra cosa.

En la presente divulgación, el término “o” significa “y/o” a menos que se establezca lo contrario. En el contexto de una reivindicación dependiente múltiple, el uso de “o” se refiere de nuevo a más de una reivindicación independiente o dependiente precedente en la alternativa solo. Además, el uso del término “que incluye”, así como otras formas, tales como “incluye” e “incluido”, no es limitativo. Además, términos tales como “elemento” o “componente” abarcan tanto elementos como componentes que comprenden una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una subunidad a menos que se establezca específicamente otra cosa.

Tal como se usa en el presente documento, el término “agente de unión específica” se refiere a una molécula natural o no natural que se une específicamente a una diana. Los ejemplos de agentes de unión específica incluyen, pero no se limitan a, proteínas, péptidos, ácidos nucleicos, hidratos de carbono, lípidos y compuestos de molécula pequeña. En determinadas realizaciones, un agente de unión específica es un anticuerpo, que puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado u otra forma de anticuerpo, tal como un anticuerpo quimérico. En otras realizaciones un agente de unión específica es un peptidocuerpo. En determinadas realizaciones, un agente de unión específica es una región de unión a antígeno que puede derivarse, pero no necesariamente, de un anticuerpo.

Tal como se usa en el presente documento, el término “agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr” se refiere a un agente de unión específica que se une específicamente a cualquier porción de un polipéptido de EGFr. En determinadas realizaciones, un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr es un anticuerpo frente a un polipéptido de EGFr, que puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado u otra forma de un anticuerpo quimérico. En determinadas realizaciones, un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr es una región de unión a antígeno que puede derivarse, pero no necesariamente, de un anticuerpo. En determinadas realizaciones, un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr es un anticuerpo frente a EGFr. En determinadas realizaciones, un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr es Vectibix® (panitumumab) y variantes y equivalentes del mismo. En otros ejemplos, un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr es cetuximab (Erbix®), Iressa® (gefitinib), Tarceva® (erlotinib), Tykerb® (lapatinib), Caprelsa® (vandetanib), zalutumumab (GenMab), nimotuzumab (YM Biosciences) y matuzumab (Merck Serono/Takeda), afatinib (Boehringer-Ingelheim), neratinib (Pfizer), canertinib (PD183805, Pfizer), AP26113 (Ariad), AEE788 (Novartis), BMS-599626 (AC480, Bristol-Myers Squibb), XL-647 (Exelixis), inhibidores de EGFr naturales tales como inhibidor de carboxipeptidasa de patata (PCI) y variantes y equivalentes de cualquiera de estas moléculas. Se apreciará que un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr puede incluir inhibidores duales (tal como se menciona en el presente documento) que presentan especificidad frente a EGFr y al menos una diana adicional deseada.

Tal como se usa en el presente documento, el término “se une específicamente” se refiere a la capacidad de un agente de unión específica para unirse a una diana con mayor afinidad de la que se une a una pareja distinta de la diana. En determinadas realizaciones, unión específica se refiere a la unión a una diana con una afinidad que es al menos 10, 50, 100, 250, 500 ó 1000 veces mayor que la afinidad por una pareja distinta de la diana. En determinadas realizaciones, la afinidad se determina mediante un ensayo ELISA de afinidad. En determinadas realizaciones, la afinidad se determina mediante un ensayo de BIAcore™. En determinadas realizaciones, la afinidad se determina mediante un método cinético. En determinadas realizaciones, la afinidad se determina mediante un método de equilibrio/disolución. En determinadas realizaciones, se dice que anticuerpo se une específicamente a un antígeno cuando la constante de disociación entre el anticuerpo y uno o más de sus epítopos reconocidos es  $\leq 1 \mu\text{M}$ , preferiblemente  $\leq 100 \text{ nM}$  y lo más preferiblemente  $\leq 10 \text{ nM}$ .

Tal como se usa en el presente documento, el término “anticuerpo” se refiere a tanto un anticuerpo intacto como un fragmento de unión a antígeno del mismo que compite con el anticuerpo intacto por la unión específica a una diana. Un “fragmento de unión a antígeno del mismo”, cuando se usa en el contexto de un anticuerpo, significa una porción o un fragmento de una molécula de anticuerpo intacto que conserva la función de unión a antígeno. Pueden producirse fragmentos de unión mediante técnicas de ADN recombinante, o mediante escisión enzimática o química de anticuerpos intactos tal como mediante escisión con papaína. Los fragmentos de unión incluyen Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, anticuerpos de cadena sencilla (“scFv”), fragmentos Fd', Fd y fragmentos que comprenden una región variable de un anticuerpo. Los expertos en la técnica conocen bien métodos para producir los diversos fragmentos a partir de anticuerpos monoclonales (véanse, por ejemplo, Pluckthun, (1992) Immunol. Rev. 130: 151-188). En el contexto de la presente divulgación, un anticuerpo se designa como “que inhibe sustancialmente la adhesión de un receptor a un contrarreceptor” (por ejemplo, EGF a EGFr) cuando un exceso de anticuerpo reduce la cantidad de receptor unido a contrarreceptor en al menos aproximadamente el 20%, el 40%, el 60% o el 80%, y más preferiblemente al menos aproximadamente el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98% o el 99% tal como se mide en un ensayo de unión competitiva *in vitro*.

Un agente o anticuerpo “aislado” que se une específicamente a un polipéptido de EGFr es un anticuerpo o agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente del entorno en el que se sintetiza (por ejemplo, una célula CHO). Los componentes contaminantes del entorno en el que se sintetiza incluyen materiales que interferirían con los usos terapéuticos o de diagnóstico del anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos. En realizaciones preferidas, el anticuerpo se purificará (1) hasta más del 95% en peso de anticuerpo tal como se determina mediante el método de Lowry, y secuenciación de aminoácidos terminales o internos mediante el uso de un secuenciador de taza giratoria; o (2) hasta la homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando azul de Coomassie o, preferiblemente, tinción de plata. Un anticuerpo aislado incluye el anticuerpo *in situ* dentro de células recombinantes puesto que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no estará presente. Habitualmente, pero no necesariamente, se preparará un anticuerpo aislado mediante al menos una etapa de purificación.

Un “Fv” o “fragmento Fv” de un anticuerpo, incluyendo un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, es el fragmento mínimo del anticuerpo que comprende un sitio de unión y reconocimiento de antígeno completo. En una especie de Fv de dos cadenas, esta región comprende un dímero de un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera en asociación estrecha, no covalente. En una especie de Fv de una única cadena, un dominio variable de una cadena pesada y una cadena ligera pueden unirse covalentemente mediante un ligador peptídico flexible de manera que las cadenas pesadas y ligeras pueden asociarse en una estructura “dimérica” análoga a la de una especie de Fv de dos cadenas. Es en esta configuración en la que las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión a antígeno sobre la superficie del dímero VH-VL. Conjuntamente, las seis CDR confieren especificidad de unión a antígeno sobre el anticuerpo. Sin embargo, incluso un único dominio variable (o la mitad de un Fv que comprende sólo tres CDR específicas para un antígeno) tiene la capacidad para reconocer y unirse al antígeno, aunque con una afinidad inferior a la del sitio de unión completo.

El término “región hipervariable” de un anticuerpo, incluyendo un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, significa los residuos de aminoácido de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable comprende generalmente residuos de aminoácido de una “región determinante de complementariedad” o “CDR” (por ejemplo, los residuos 24-34 (L1), 50-62 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 31-55 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de cadena pesada, tal como se define por Kabat *et al*, Sequence of Proteins of Immunological Interest, 5<sup>a</sup> ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) y/o los residuos de un “bucle hipervariable” (por ejemplo, los residuos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 26-32 ((H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en el dominio variable de cadena pesada, tal como se define por Chothia & Lesk J. Mol. Biol 196:901-917 (1987)). Residuos de “región de entramado” o “FR” son los residuos de dominios variables distintos de los residuos de la región hipervariable definidos en el presente documento. Se indica que los residuos que se menciona que definen las CDR y el bucle hipervariable se proporcionan anteriormente usando el sistema de numeración de Kabat *et al*. y Chothia & Lesk, estos y otros sistemas para definir CDR y otras diversas características de un anticuerpo (por ejemplo, el sistema AHo, Honegger & Pluckthun, (2001) J. Mol. Biol. 309:657-70) pueden emplearse de manera intercambiable.

El término “regiones determinantes de complementariedad” o “CDR”, cuando se usa en el presente documento, se refiere a aquellas partes de un anticuerpo, incluyendo un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, que entran en contacto con un ligando específico y determinan su especificidad. Las CDR de anticuerpos son la parte más variable de la proteína, proporcionando a los anticuerpos su diversidad, y se portan en seis bucles en el extremo distal de los dominios variables del anticuerpo, procediendo tres bucles de cada uno de los dos dominios variables del anticuerpo.

El término “epítipo” incluye cualquier determinante proteico que puede unirse específicamente a una inmunoglobulina y/o receptor de células T. Los determinantes epitópicos consisten habitualmente en agrupamientos de moléculas de superficie químicamente activas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y tienen habitualmente características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas.

El término “agente” se usa en el presente documento para indicar un compuesto químico, una mezcla de compuestos químicos, una macromolécula biológica (tal como un anticuerpo u otro agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFR), o un extracto preparado a partir de materiales biológicos.

5 Tal como se usa en el presente documento, los términos “marcador” o “marcado” se refiere a la incorporación de un marcador detectable, por ejemplo, mediante la incorporación de un aminoácido radiomarcado o mediante unión a un polipéptido de restos de biotín que pueden detectarse mediante avidina marcada (por ejemplo, estreptavidina que contiene un marcador fluorescente o actividad enzimática que puede detectarse mediante métodos ópticos o colorimétricos) o mediante unión a un anticuerpo que es específico para un marcador que va a estudiarse (por ejemplo, p16<sup>INK4A</sup>). En determinadas situaciones, la marca o el marcador puede ser también terapéutico. En la técnica se conocen diversos métodos de marcaje de polipéptidos y glicoproteínas y pueden usarse. Los ejemplos de marcadores para polipéptidos incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>35</sup>S, <sup>90</sup>Y, <sup>99</sup>Tc, <sup>111</sup>In, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I), marcadores fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fósforos de lantánido), marcadores enzimáticas (por ejemplo, peroxidasa de rábano, β-galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), grupos quimioluminiscentes, grupos biotín, y epítomos de polipéptido predeterminados reconocidos por un indicador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremallera de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metal, etiquetas de epítomo). En algunas realizaciones, los marcadores se unen mediante brazos espaciadores de diversas longitudes para reducir el posible impedimento estérico.

20 El término “agente o fármaco farmacéutico” tal como se usa en el presente documento se refiere a un compuesto químico o composición que puede inducir un efecto terapéutico (preferiblemente un efecto terapéutico deseado) cuando se administra apropiadamente a un paciente. Se usan otros términos químicos en el presente documento según el uso convencional en la técnica, tal como se ejemplifica por The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S., Ed., McGraw-Hill, San Francisco (1985)).

25 El término “agente antineoplásico” se usa en el presente documento para referirse a agentes que tienen la propiedad funcional de inhibir el desarrollo o la progresión de una neoplasia en un humano, particularmente una lesión maligna (cancerosa), tal como un carcinoma, sarcoma, linfoma o leucemia. La inhibición de la metástasis es frecuentemente una propiedad de los agentes antineoplásicos. En determinadas realizaciones, un agente antineoplásico es panitumumab.

30 Tal como se usa en el presente documento, “sustancialmente puro” significa una especie objeto que es la especie predominante presente (es decir, en una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición), y preferiblemente una fracción sustancialmente purificada es una composición en la que la especie objeto comprende al menos aproximadamente el 50 por ciento (en una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. Generalmente, una composición sustancialmente pura comprenderá más de aproximadamente el 80 por ciento de todas las especies macromoleculares presentes en la composición, más preferiblemente más de aproximadamente el 85%, el 90%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98% o el 99%. Lo más preferiblemente, la especie objeto se purifica hasta homogeneidad esencial (no pueden detectarse especies contaminantes en la composición mediante métodos de detección convencionales) en la que la composición consiste esencialmente en una única especie macromolecular.

Tal como se usa en el presente documento, el término “paciente” incluye sujetos humanos y animales.

40 Los términos “mamífero” y “animal” para fines de tratamiento se refieren a cualquier animal clasificado como mamífero, incluyendo humanos, animales domésticos y de granja, y animales de zoo, deportes o mascotas, tales como perros, caballos, gatos, vacas, etc. Preferiblemente, el mamífero es humano.

El término “estado patológico” se refiere a un estado fisiológico de una célula o de todo un mamífero en el que se ha producido una interrupción, un cese o un trastorno de órganos, sistemas o funciones celulares o corporales.

45 Los términos “tratar” o “tratamiento” se refieren a tanto tratamiento terapéutico como medidas profilácticas o preventivas, en los que el objeto es prevenir o ralentizar (reducir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, tal como el desarrollo o expansión de cáncer. Para fines de esta invención, los resultados clínicos deseados o beneficiosos incluyen, pero no se limitan a, alivio de síntomas, disminución del grado de la enfermedad, estado de la enfermedad estabilizado (es decir, no empeorado), retraso o ralentización de la progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado patológico, y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o no detectable. “Tratamiento” puede significar también prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen los que ya tienen un estado o trastorno así como los propensos a tener el estado o trastorno o en los que va a prevenirse el estado o trastorno.

55 El término “sensible” tal como se usa en el presente documento significa que un paciente o tumor muestra una respuesta tras la administración de un agente, según el programa RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*, criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos). La respuesta puede ser una respuesta completa o una respuesta parcial. El término “insensible” tal como se usa en el presente documento significa que un paciente o tumor muestra enfermedad estable o enfermedad progresiva tras la administración de un agente, según

RECIST. RECIST se describe, por ejemplo, en Therasse *et al.*, (2000) J. Natl. Cancer Inst. 92(3): 205-216. Los agentes a modo de ejemplo incluyen agentes de unión específica a un polipéptido de EGFr, incluyendo pero sin limitarse a, anticuerpos que se unen específicamente a EGFr.

5 Un “trastorno” es cualquier estado que se beneficiaría de uno o más tratamientos. Esto incluye trastornos crónicos o agudos o enfermedad incluyendo los estados patológicos que predisponen al mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos no limitativos de trastornos descritos en el presente documento incluyen tumor benignos y malignos, leucemias y tumores malignos linfáticos. Un trastorno preferido es un tumor maligno, incluyendo tumores de la cavidad oral, faringe, laringe o hipofaringe.

10 Una “enfermedad o estado relacionado con un polipéptido de EGFr” incluye uno o más de los siguientes: una enfermedad o estado provocado por un polipéptido de EGFr; una enfermedad o estado al que contribuye un polipéptido de EGFr; y una enfermedad o estado que está asociado con la presencia de un polipéptido de EGFr. En determinadas realizaciones, una enfermedad o estado relacionado con un polipéptido de EGFr es un cáncer. Los cánceres a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, tumores de la cavidad oral, faringe, laringe o hipofaringe.

15 En “terapia combinada”, se tratan los pacientes con un agente de unión específica para un antígeno diana en combinación con un agente quimioterápico o antineoplásico y/o radioterapia. En determinadas realizaciones, el agente de unión específica es panitumumab. Los diseños de protocolo se dirigirán a la eficacia tal como se evalúa mediante la reducción en la masa tumoral así como la capacidad de reducir dosis habituales de quimioterapia convencional. Estas reducciones de dosificación permitirán una terapia adicional y/o prolongada reduciendo la toxicidad relacionada con la dosis del agente quimioterápico.

20 “Monoterapia” se refiere al tratamiento de un trastorno administrando inmunoterapia a pacientes sin un agente quimioterápico o antineoplásico de acompañamiento. En determinadas realizaciones, la monoterapia comprende administrar panitumumab en ausencia de agente quimioterápico o antineoplásico y/o radioterapia.

25 Tal como se usa en el presente documento, el término “positivo para VPH” significa tinción uniforme del 10% o más células tumorales en una muestra obtenida de un sujeto que tiene un tumor de HNSCC en un ensayo de IHC que comprende un reactivo de anticuerpo monoclonal que se une específicamente a p16<sup>INK4A</sup>. Véanse, por ejemplo, Klussmann *et al.* (2003) y Belgum *et al.* (2005). En un contexto de realización específico, el término indica una puntuación del 10 por ciento de tinción uniforme positiva en una muestra incrustada en parafina fijada con formalina (FFPE) obtenida de un paciente tal como se determina mediante el kit de histología CINtec<sup>TM</sup> fabricado y comercializado por mtm Laboratories de Heidelberg, Alemania. Una variedad de otros kits de detección de VPH están disponibles comercialmente, como apreciarán los expertos en la técnica.

35 Tal como se usa en el presente documento, el término “negativo para VPH” significa tinción focal escasa o tinción difusa de menos del 10% de las células tumorales de HNSCC en una muestra obtenida de un sujeto que tiene un tumor de HNSCC en un ensayo de IHC que comprende un reactivo que se une específicamente a p16<sup>INK4A</sup>. En una realización específica, el término indica tinción de menos del 10% en una muestra obtenida de un paciente tal como se determina mediante el kit de histología CINtec<sup>TM</sup> fabricado y comercializado por mtm Laboratories de Heidelberg, Alemania.

Tal como se usa en el presente documento, el término “tumor de HNSCC” significa una célula escamosa o tumor basaloide que surge en la región de la cabeza o el cuello e incluye tumores de la cavidad nasal, senos, labios, boca y cavidad oral, glándulas salivales, faringe o laringe.

40 Tal como se usa en el presente documento, el término “polipéptido de EGFr” significa un polipéptido, o variante del mismo, que comprende una glicoproteína de la superficie celular transmembrana de 170 kDa, desencadena una cascada de acontecimientos bioquímicos celulares, incluyendo autofosforilación de EGFr e internalización, lo que culmina en proliferación celular (Ullrich *et al.*, Cell 61 :203-212, 1990).

45 Tal como se usa en el presente documento, el término “p16<sup>INK4A</sup>” significa un polipéptido, o variante del mismo, que comprende la secuencia de aminoácidos de número de registro de Genbank GI:4502749.

50 Tal como se usa en el presente documento, el término “cáncer” significa un trastorno que puede atribuirse a crecimiento celular no deseado, y se caracteriza por la presencia de un tumor no deseado. Cabe destacar que el término “cáncer” abarca estados en los que el crecimiento celular no deseado ha formado un tumor, así como estados de crecimiento celular no deseado en los que está ausente un tumor o no se ha desarrollado todavía. El término incluye específicamente tumores benignos y malignos, leucemias y tumores malignos linfáticos, en particular cáncer de mama, rectal, de ovarios, de estómago, de endometrio, de glándulas salivales, de riñón, de colon, de tiroides, pancreático, de próstata o de vejiga. En determinadas realizaciones un cáncer es una enfermedad o un estado provocado por un polipéptido de EGFr, una enfermedad o un estado al que contribuye un polipéptido de EGFr y/o una enfermedad o estado que está asociado con la presencia de un polipéptido de EGFr. En determinadas realizaciones, una enfermedad o un estado relacionado con un polipéptido de EGFr es un cáncer, tal como carcinoma de pulmón de células no pequeñas, carcinomas de mama, de colon, rectal, gástrico, de cerebro, de vejiga, de cabeza y cuello, de ovarios, de próstata, o un tumor de HNSCC, tal como un tumor de la laringe, orofaringe, faringe o cavidad oral.

Consideraciones iniciales

- Se proporcionan en el presente documento métodos dirigidos a un paciente que tiene un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene un tumor de HNSCC, notablemente un tumor de HNSCC localmente avanzado. Tales tumores incluyen tumores orofaríngeos, tumores de la laringe, tumores de la cavidad oral y tumores de la hipofaringe. Tales tumores los identifican rutinariamente profesionales en el campo de la oncología, tales como médicos, oncólogos médicos, histopatólogos y médicos oncólogos. Aunque la incidencia de estos tipos de tumores está correlacionada a menudo con el uso de tabaco, particularmente fumar cigarrillos, no hay ningún requisito en los métodos dados a conocer de que un paciente haya usado tabaco y por tanto cualquier paciente que tenga un tumor (tal como un tumor de HNSCC) que sea negativo para VPH puede beneficiarse de los métodos dados a conocer. No hay ningún requisito en cuanto al estadio del tumor del paciente; el tumor puede estar en cualquier estadio de crecimiento, por ejemplo T2, T3 o T4. El tumor puede existir también en cualquier estadio del estadio nodal, por ejemplo N0, N1, N2a, N2b, N2c o N3. Además, el tumor puede estadificarse como tal mediante cualquier sistema, por ejemplo el sistema de AJCC o el sistema de estadificación de TNM.
- Tal como se indica en el presente documento, el término “paciente” se refiere a cualquier organismo que tiene un paciente que tiene un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene un tumor de HNSCC localmente avanzado. Preferiblemente el paciente es un mamífero y más preferiblemente el paciente es un ser humano. No hay ninguna restricción de edad en el término “paciente”, y por tanto un paciente puede ser un adulto masculino o femenino, o un niño masculino o femenino de cualquier edad, incluyendo lactantes. Además, un paciente puede ser de cualquier raza.
- Los métodos dados a conocer también se refieren al tratamiento terapéutico de un paciente de este tipo con un agente que se une específicamente a un polipéptido de receptor de EGF. Puede emplearse cualquier tipo de agente, con la condición de que el agente se una específicamente a un polipéptido de EGFr. Tales agentes pueden ser biológicos, muchos de los cuales se usan comúnmente en regímenes de tratamiento dirigidos a tales tumores. Una lista no limitativa de tales agentes incluye panitumumab (Vectibix®), cetuximab (Erbix®), Iressa® (gefitinib), Tarceva® (erlotinib), Tykerb® (lapatinib), Caprelsa® (vandetanib), zalutumumab (GenMab), nimotuzumab (YM Biosciences) y matuzumab (Merck Serono/Takeda), afatinib (Boehringer-Ingelheim), neratinib (Pfizer), canertinib (PD183805, Pfizer), AP26113 (Ariad), AEE788 (Novartis), BMS-599626 (AC480, Bristol-Myers Squibb), XL-647 (Exelixis), e inhibidores de EGFr naturales tales como inhibidor de carboxipeptidasa de patata (PCI).
- La receptividad o no receptividad al tratamiento con un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr puede determinarse usando cualquier criterio establecido. En un ejemplo específico, la receptividad o no receptividad puede determinarse usando los criterios de RECIST ampliamente adoptados (criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos). Véase, por ejemplo, Therasse *et al*, citado anteriormente. La respuesta completa y respuesta parcial según RECIST se consideran ambas que son sensibles al tratamiento con un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr. La enfermedad estable y enfermedad progresiva se consideran ambas que son insensibles al tratamiento con un agente de unión específica a un polipéptido de EGFr.
- Todos los métodos dados a conocer pueden complementarse según se desee. Por ejemplo, los métodos dados a conocer pueden comprender opcionalmente de manera adicional realizar una determinación de la receptividad de un paciente que tiene un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene un tumor de HNSCC localmente avanzado a una terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr. Una determinación de este tipo puede hacerse usando los criterios de RECIST, tal como se describe en el presente documento.
- En otro aspecto, los métodos dados a conocer pueden complementarse ajustando la terapia de un paciente que tiene un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene un tumor de HNSCC localmente avanzado basándose en una evaluación de los resultados del método. En una realización, un paciente que no recibe terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr puede colocarse en un régimen de este tipo, basándose en el establecimiento de que el tumor del paciente es negativo para VPH. En una realización la terapia puede comprender administrar un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr (tal como Vectibix®) a una dosificación de 6 mg/kg cada 14 días como una infusión intravenosa a lo largo de 60 minutos o 90 minutos, dependiendo de la cantidad del agente proporcionado.
- En todavía otro aspecto, puede determinarse que, basándose en la evaluación del estado de VPH del tumor, un paciente que tiene un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene un tumor de HNSCC localmente avanzado que recibe terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr se beneficiaría de un régimen de productos terapéuticos que comprende productos terapéuticos además del régimen actual del paciente de un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.
- Se indica que hay diferentes formas de tumores de HNSCC, que se clasifican a menudo por el sitio dentro del tracto aerodigestivo superior en el que surgen estos tumores incluyendo tumores orofaríngeos, tumores de laringe, tumores de la cavidad oral y tumores de la hipofaringe. Tal como se usa en el presente documento, el término “tumor de HNSCC” abarca todos estos tipos de tumores. Esto incluye variantes queratinizantes, mixtas y no queratinizantes. Por tanto, cuando se determina si un tumor de HNSCC localmente avanzado o recurrente

metastásico es positivo o negativo, la determinación puede realizarse en cualquier tipo de tumor de HNSCC localmente avanzado o recurrente metastásico.

Método de predicción de si un paciente que tiene un tumor, por ejemplo, un tumor de HNSCC, se beneficiará del tratamiento que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr

- 5 La infección por VPH de HNSCC marcada por la expresión regulada por incremento de la proteína p16<sup>INK4A</sup> se ha identificado como un posible marcador de pronóstico en HNSCC localmente avanzado (véase, por ejemplo, Ang *et al.*, (2010) *N. Engl. J. Med.* 363: 24-35). Hasta la presente divulgación, sin embargo, no se le había atribuido a VPH un papel predictivo de la respuesta al tratamiento, particularmente en el área de terapias basadas en inhibidor de EGFr. Por consiguiente, en un aspecto de la presente divulgación, se proporciona un método de predicción de si un
- 10 paciente que tiene un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene un tumor de HNSCC, se beneficiará del tratamiento que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr. En una realización el método comprende determinar si el tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH, en el que si el tumor del paciente es negativo para VPH se predice que el paciente se beneficia del tratamiento con un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.
- 15 Inicialmente el tumor del paciente se determina que es positivo para VPH o negativo para VPH. Con el fin de realizar la determinación, puede emplearse cualquier método conveniente. Por ejemplo, pueden emplearse técnicas tan variadas como IHC, FISH, qPCR o un enfoque basado en espectrometría de masas. Lo más a menudo, será necesario obtener una muestra del tumor del paciente y realizar la determinación en un entorno *in vitro*, por ejemplo tras preparar la muestra para las pruebas usando una muestra incrustada en parafina fijada con formalina (FFPE).
- 20 En diversas realizaciones del método dado a conocer, la determinación de si el tumor de un paciente es positivo para VPH o negativo para VPH puede realizarse basándose en una evaluación de uno cualquiera o una combinación de marcadores de VPH asociados con el tumor. Un marcador particularmente útil es p16<sup>INK4A</sup>. Este marcador es indicativo de la presencia de VPH, y puede detectarse fácilmente usando una variedad de enfoques. Otros marcadores que pueden usarse para indicar la presencia o ausencia de VPH incluyen VPH E7.
- 25 En una realización específica, la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> puede usarse para determinar si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH. Si el paciente expresa p16<sup>INK4A</sup>, se designa al paciente como positivo para VPH; si el paciente no expresa p16<sup>INK4A</sup>, se designa al paciente como negativo para VPH. La presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> puede determinarse fácilmente usando un kit disponible comercialmente o anticuerpo monoclonal o policlonal de la especificidad requerida. Por ejemplo, puede emplearse el kit de histología CINtec® (mtm Laboratories AG, Heidelberg, Alemania) para identificar p16<sup>INK4A</sup>. El kit de histología CINtec® es un kit de IHC
- 30 diseñado y etiquetado para la detección de p16<sup>INK4A</sup> en el contexto de cáncer de cuello uterino. Cuando se usa un kit de este tipo, puede validarse para su uso en tumores de HNSCC por un laboratorio independiente. Alternativamente, puede suministrarse una muestra del tumor del paciente a un proveedor que puede realizar un ensayo de IHC y notificar los resultados. En aún otro ejemplo, puede generarse un anticuerpo anti-p16<sup>INK4A</sup> y usarse como
- 35 componente de un procedimiento de IHC.

La determinación de si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH basándose en el patrón y la distribución de proteína p16<sup>INK4A</sup> puede hacerse basándose en directrices de puntuación. Las directrices pueden ser cuantitativas, semicuantitativas o cualitativas. En un ejemplo, cuando se usa p16<sup>INK4A</sup> como marcador y se emplea el

40 kit de histología CINtec® para determinar la presencia del marcador, puede usarse el atlas de tinción CINtec® (atlas de tinción de p16<sup>INK4A</sup> CINtec®, Trunk *et al.*, mtm Laboratories AG, Heidelberg, Alemania) para identificar tumores positivos para VPH y negativos para VPH. Alternativamente, puede establecerse un conjunto de directrices de puntuación usando los patrones de tinción de p16<sup>INK4A</sup> observados en una población de referencia de SCCHN evaluada con metodologías histológicas tradicionales o sondas moleculares para la expresión de ARNm transcrito a partir de los genes de VPH E6 y E7.

- 45 Tal como se demuestra mediante los datos presentados en los ejemplos, los pacientes cuyo tumor era negativo para VPH y que recibieron terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr mostraron una potenciación de la supervivencia libre de progresión y de la supervivencia global. Por tanto, si el tumor del paciente (por ejemplo, un tumor de HNSCC) es negativo para VPH se predice que el paciente se beneficia del tratamiento con un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.
- 50 Método de prolongación de la supervivencia global de un paciente que tiene un tumor, por ejemplo un tumor de HNSCC

- Tal como se demuestra mediante los datos presentados en los ejemplos proporcionados en el presente documento, los pacientes cuyo tumor era negativo para VPH y que recibieron terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr mostraron una potenciación de la supervivencia global, así como de la
- 55 supervivencia libre de progresión. Por consiguiente, en otro aspecto de la presente divulgación se proporciona un método de prolongación de la supervivencia global de un paciente que tiene un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene HNSCC localmente avanzado o tumor metastásico o recurrente. En una realización, el método comprende determinar si el tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH, y administrar un agente

que se une específicamente a un polipéptido de EGFr al paciente si el tumor del paciente es negativo para VPH, mediante lo cual se prolonga la supervivencia global y/o supervivencia libre de progresión del paciente.

5 Cuando se realiza el método, se determina que el estado de tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH. Tal como es el caso con todos los métodos dados a conocer, con el fin de realizar la determinación, puede emplearse cualquier método conveniente conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, pueden emplearse técnicas tan variadas como IHC, FISH, qPCR o un enfoque basado en espectrometría de masas. Lo más a menudo, será deseable obtener una muestra del tumor del paciente y realizar la determinación en un entorno *in vitro*.

10 En diversas realizaciones del método dado a conocer, la determinación de si el tumor de un paciente es positivo para VPH o negativo para VPH puede hacerse basándose en una evaluación de uno cualquiera o una combinación de marcadores de VPH asociados con el tumor. Un marcador particularmente útil es p16<sup>INK4A</sup>. Este marcador es indicativo de la presencia de VPH, y la expresión de dos oncogenes virales descritos E6 y E7 y puede detectarse fácilmente usando una variedad de enfoques. Otros marcadores que pueden usarse para indicar la presencia o ausencia de VPH incluyen VPH E7.

15 En una realización específica, la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> puede usarse para determinar si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH. Si el paciente expresa p16<sup>INK4A</sup>, con el grado requerido y la distribución de tinción de células tumorales identificables, se designa al paciente como positivo para VPH; si el paciente no expresa p16<sup>INK4A</sup>, se designa al paciente como negativo para VPH. La presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> puede determinarse fácilmente usando un kit disponible comercialmente o un proveedor de servicios. Por ejemplo, puede emplearse el  
 20 kit de histología CINtec® (mtm Laboratories AG, Heidelberg, Alemania) para identificar p16<sup>INK4A</sup>. El kit de histología CINtec® es un kit de IHC diseñado para la detección de p16<sup>INK4A</sup> en el contexto de cáncer de cuello uterino. Cuando se usa un kit de este tipo, puede validarse por un laboratorio independiente. Alternativamente, puede suministrarse una muestra del tumor del paciente a un proveedor que puede realizar un ensayo de IHC y notificar los resultados. En aún otro ejemplo, puede generarse un anticuerpo anti-p16<sup>INK4A</sup> y usarse como componente de un procedimiento  
 25 de IHC.

La determinación de si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH puede hacerse basándose en directrices de puntuación. Las directrices pueden ser cuantitativas, semicuantitativas o cualitativas. En un ejemplo, cuando se usa p16<sup>INK4A</sup> como marcador y el kit de histología CINtec® se emplea para determinar la presencia del  
 30 marcador, puede usarse el atlas de tinción CINtec® (atlas de tinción de p16<sup>INK4A</sup> CINtec®, Trunk *et al*, mtm Laboratories AG, Heidleberg, Alemania) para identificar tumores positivos para VPH y negativos para VPH. Alternativamente, puede establecerse un conjunto de directrices de puntuación usando metodologías histológicas tradicionales.

Continuando, si el tumor es negativo para VPH, se administra un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr al paciente. Tal como se indica en el presente documento, los datos presentados en los  
 35 ejemplos indican que cuando el tumor de un paciente es negativo para VPH y se administra un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, se prolonga la supervivencia global y/o libre de progresión del paciente.

Método de estratificación de una población de pacientes que tienen un tumor, por ejemplo un tumor de HNSCC

Tal como se demuestra mediante los datos presentados en los ejemplos, los pacientes que tienen un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene tumor de HNSCC localmente avanzado o metastásico recurrente que es  
 40 negativo para VPH se beneficiará de una terapia que comprende un agente que se une específicamente a EGFr. Por consiguiente, puede ser deseable identificar o estratificar tales pacientes para el tratamiento con un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, usando el estado de VPH como indicador. Por tanto, en otro aspecto de la divulgación actual se proporciona un método de estratificación de una población de pacientes que tienen un tumor de HNSCC localmente avanzado en grupos que se beneficiarán y los que se beneficiarán más de una terapia  
 45 que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.

Cuando se realiza el método, se determina que el estado de tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH. Tal como es el caso con todos los métodos dados a conocer, con el fin de hacer la determinación, puede emplearse cualquier método conveniente. Por ejemplo, pueden emplearse técnicas tan variadas como IHC, FISH, qPCR o un enfoque basado en espectrometría de masas. Lo más a menudo, será deseable obtener una muestra del  
 50 tumor del paciente y realizar la determinación en un entorno *in vitro*.

En diversas realizaciones, la determinación de si el tumor de un paciente es positivo para VPH o negativo para VPH puede hacerse basándose en una evaluación de uno cualquiera o una combinación de marcadores de VPH asociados con el tumor. Un marcador particularmente útil es p16<sup>INK4A</sup>. Este marcador es indicativo de la presencia de VPH, y puede detectarse fácilmente usando una variedad de enfoques. Otros marcadores que pueden usarse para  
 55 indicar la presencia o ausencia de VPH incluyen VPH E7.

En una realización específica, la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> puede usarse para determinar si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH. Si el paciente expresa p16<sup>INK4A</sup>, se designa al paciente como positivo para VPH; si el paciente no expresa p16<sup>INK4A</sup>, se designa al paciente como negativo para VPH. La presencia o ausencia

de p16<sup>INK4A</sup> puede determinarse fácilmente usando un kit disponible comercialmente o un proveedor de servicios. Por ejemplo, puede emplearse el kit de histología CINtec® (mtm Laboratories AG, Heidelberg, Alemania) para identificar p16<sup>INK4A</sup>. El kit de histología CINtec® es un kit de IHC diseñado para la detección de p16<sup>INK4A</sup> en el contexto de cáncer de cuello uterino. Cuando se usa un kit de este tipo, puede validarse por un laboratorio independiente. Alternativamente, puede suministrarse una muestra del tumor del paciente a un proveedor que puede realizar un ensayo de IHC y notificar los resultados. En aún otro ejemplo, puede generarse un anticuerpo anti-p16<sup>INK4A</sup> y usarse como componente de un procedimiento de IHC.

La determinación de si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH puede hacerse basándose en directrices de puntuación. Las directrices pueden ser cuantitativas, semicuantitativas o cualitativas. En un ejemplo, cuando se usa p16<sup>INK4A</sup> como marcador y se emplea el kit de histología CINtec® para determinar la presencia del marcador, puede usarse el atlas de tinción CINtec® (atlas de tinción de p16<sup>INK4A</sup> CINtec®, Trunk *et al.*, mtm Laboratories AG, Heidelberg, Alemania) para identificar tumores positivos para VPH y negativos para VPH. Alternativamente, puede establecerse un conjunto de directrices de puntuación usando metodologías histológicas tradicionales.

Continuando, los pacientes cuyos tumores son negativos para VPH se seleccionan para el tratamiento con una terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr. Se espera que estos pacientes se beneficien más que los pacientes que son positivos para VPH en una terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr. Estratificando un grupo de pacientes que tienen un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene tumor de HNSCC localmente avanzado, un profesional médico podrá adaptar una terapia a las necesidades particulares del paciente y potenciar la probabilidad de que el paciente responda positivamente.

Método de tratamiento de un paciente que tiene un tumor, por ejemplo un tumor de HNSCC localmente avanzado

Tal como se describe en el presente documento y en los ejemplos, se ha determinado que pacientes que tienen un tumor, y en un aspecto particular, un paciente que tiene tumor de HNSCC localmente avanzado que es negativo para VPH presentan una potenciación en la supervivencia global y/o libre de progresión cuando se tratan con un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr. Por consiguiente, se proporciona un método de tratamiento de tales pacientes. En una realización de un método de tratamiento de un paciente que tiene un tumor de HNSCC localmente avanzado comprende determinar que el estado del tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH. Tal como es el caso con todos los métodos dados a conocer, con el fin de hacer la determinación, puede emplearse cualquier método conveniente. Por ejemplo, pueden emplearse técnicas tan variadas como IHC, FISH, qPCR o un enfoque basado en espectrometría de masas. Lo más a menudo, será deseable obtener una muestra del tumor del paciente y realizar la determinación en un entorno *in vitro*.

En diversas realizaciones, la determinación de si el tumor de un paciente es positivo para VPH o negativo para VPH puede hacerse basándose en una evaluación de uno cualquiera o una combinación de marcadores de VPH asociados con el tumor. Un marcador particularmente útil es p16<sup>INK4A</sup>. Este marcador es indicativo de la presencia de VPH, y puede detectarse fácilmente usando una variedad de enfoques. Otros marcadores que pueden usarse para indicar la presencia o ausencia de VPH incluyen VPH E7.

En una realización específica, la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> puede usarse para determinar si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH. Si el paciente expresa p16<sup>INK4A</sup>, se designa al paciente como positivo para VPH; si el paciente no expresa p16<sup>INK4A</sup>, se designa al paciente como negativo para VPH. La presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> puede determinarse fácilmente usando un kit disponible comercialmente o un proveedor de servicios. Por ejemplo, puede emplearse el kit de histología CINtec® (mtm Laboratories AG, Heidelberg, Alemania) para identificar p16<sup>INK4A</sup>. El kit de histología CINtec® es un kit de IHC diseñado para la detección de p16<sup>INK4A</sup> en el contexto de cáncer de cuello uterino. Alternativamente, puede suministrarse una muestra del tumor del paciente a un proveedor que puede realizar un ensayo de IHC y notificar los resultados. En aún otro ejemplo, puede generarse un anticuerpo anti-p16<sup>INK4A</sup> y usarse como componente de un procedimiento de IHC.

La determinación de si el tumor de un paciente es positivo o negativo para VPH puede hacerse basándose en directrices de puntuación. Las directrices pueden ser cuantitativas, semicuantitativas o cualitativas. En un ejemplo, cuando se usa p16<sup>INK4A</sup> como marcador y el kit de histología CINtec® se emplea para determinar la presencia del marcador, puede usarse el atlas de tinción CINtec® (atlas de tinción de p16<sup>INK4A</sup> CINtec®, Trunk *et al.*, mtm Laboratories AG, Heidelberg, Alemania) para identificar tumores positivos para VPH y negativos para VPH. Alternativamente, puede establecerse un conjunto de directrices de puntuación usando metodologías histológicas tradicionales.

Continuando con el método, si el tumor del paciente es negativo para VPH, se le administra al paciente un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr. Tal como se muestra en los datos presentados en el presente documento, los pacientes que tienen tumores que son negativos para VPH muestran potenciaciones de la supervivencia global y/o de la supervivencia libre de progresión cuando se les administra un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr. Realizando el método dado a conocer, el profesional médico puede proporcionar un régimen de tratamiento más eficaz a pacientes que padecen este estado.

El método puede comprender además un régimen de tratamiento que se conoce que es eficaz para el agente particular que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.

**Ejemplos**

5 Los siguientes ejemplos, incluyendo los experimentos realizados y los resultados logrados se proporcionan para fines ilustrativos solo y no han de interpretarse como limitativos de las reivindicaciones. Realizaciones adicionales de los métodos dados a conocer resultarán evidentes para los expertos en la técnica tras considerar la presente divulgación y los siguientes ejemplos. Por consiguiente, se pretende que la presente divulgación, incluyendo los siguientes ejemplos, se considere que proporcionan realizaciones particulares, pero no limitativas, de los métodos dados a conocer.

10 Ejemplo 1

Identificación del estado positivo/negativo para VPH

15 Con el fin de identificar el estado de VPH de los sujetos que toman parte en el ensayo, se adquirieron muestras de tumor de HNSCC de los sujetos que participan en un ensayo clínico de HNSCC que implica quimioterapia citotóxica sistémica con y sin panitumumab. De los 657 sujetos en el ensayo, el 67% o 411 sujetos proporcionaron muestras de tumor de FFPE de archivo evaluables que contenían al menos el 10 por ciento de muestras de células tumorales.

En la tabla 1 se resumen las características de demografía y enfermedad de pacientes que participaron en el ensayo:

Tabla 1

Características de demografía y enfermedad de pacientes

	ITT		VPH+		VPH-	
	Pmab + CT (n = 327)	CT (n = 330)	Pmab + CT (n = 56)	CT (n = 37)	Pmab + CT (n = 165)	CT (n = 153)
Sexo, masculino - %	87	87	84	81	87	89
Raza, blanca - %	82	82	80	86	85	84
Edad, mediana - años	58	59	58	60	57	59
ECOG 0-%	30	30	38	38	33	26
£ 10 paquetes-años-%	26	22	43	24	19	15
>10 paquetes-años-%	61	65	52	57	64	71
Antes de platino - %	39	34	38	54	40	31
Pérdida de peso ≤ 5% - %	81	79	80	81	82	80
Pérdida de peso > 5% - %	18	21	18	19	18	20
Región - %						
América del Norte/Sur	15	17	23	32	15	18
Europa occidental	31	35	32	41	34	38
Asia pacífico	17	13	16	5	16	10
Europa oriental	38	35	29	22	35	33

20 Se envió una muestra de tumor a un laboratorio independiente para la evaluación patológica y construcción de microalineamientos de tumor. Un único patólogo, con experiencia significativa leyendo carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, examinó una sección de tejido de 5 micrómetros teñida con hematoxilina y eosina convencional de cada muestra remitida. La revisión patológica incluyó: diagnóstico (presencia o ausencia de HNSCC); tipo de muestra (resección tumoral/ganglio linfático/metástasis (por ejemplo, pulmón, hígado)); tipo  
25 histológico (HNSCC (NOS) frente a papilar frente a célula del huso (sarcomatoide) frente a basaloide frente a otros, incluyendo adenoescamoso; estado de diferenciación (bueno, moderado, escaso, no diferenciado o no determinable); bordes del tumor (infiltrante frente a que presiona); respuesta inflamatoria; necrosis, incluyendo comedonecrosis; y otras observaciones, según sea aplicable. Como resultado de este análisis, se determinó que de los 657 sujetos en el ensayo, el 67% tenía muestras con más del 10% de tumor viable. Se creó un conjunto de  
30 microalineamientos de tumor que contenían 1083 núcleos de 1 mm individuales para facilitar la estandarización del ensayo de IHC y para proporcionar múltiples réplicas de muestras en las que el tejido tumoral permitió

Se midió el estado de VPH usando el kit de histología CINtec™ disponible comercialmente (mtm Laboratories, Heidelberg, Alemania). El kit de histología CINtec™ es un ensayo semicuantitativo, inmunocitoquímico para la evaluación del inhibidor de cinasa dependiente de ciclina sobreexpresado, proteína p16<sup>INK4A</sup>, en secciones de tejido incrustado en parafina, fijado con formalina. La presencia o ausencia de proteína p16<sup>INK4A</sup> es indicativa de que la muestra es positiva para VPH o negativa para VPH. El clon de anticuerpo es E6H4. El kit disponible comercialmente está autorizado por la FDA y etiquetado para su uso en tejido de cáncer de cuello uterino.

Más específicamente, se puntuaron las muestras de tumor de los sujetos como positivas, negativas o no pudieron puntuarse según unas directrices de puntuación de IHC preespecificadas. Esencialmente, se determinó que un sujeto era positivo para tumor de VPH (VPH+) cuando se detectaba expresión de proteína p16<sup>INK4A</sup> uniforme en al menos el 10% de las células tumorales. Se determinó que un sujeto era negativo para tumor de VPH (VPH-) cuando no estaba presente proteína p16<sup>INK4A</sup> o se observaba en menos del 10% de las células tumorales.

Antes de usar el ensayo en muestras adquiridas de sujetos en el ensayo clínico, se realizó una verificación del rendimiento del kit de histología CINtec™ en muestras de tumor de HNSCC incrustado en parafina fijado con formalina (FFPE) según las regulaciones de Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA). Un laboratorio de pruebas independiente realizó una validación analítica del kit de histología CINtec™ para su uso en HNSCC y proporcionó un paquete de validación. Además se desarrollaron unas directrices de puntuación inmunohistoquímica y se siguieron durante las pruebas de las muestras. Se puntuaron de manera dicotómica las muestras como positivas o negativas basándose en los resultados del ensayo validado.

El análisis de las muestras para determinar la presencia o ausencia de VPH proporcionó los datos presentados en la tabla 2:

Tabla 2

Resultados del análisis de VPH

Sitio tisular	Todos los tumores N=657	HPV evaluable N=377 (57%)	Positivo para HPV N=83	Negativo para HPV N=294	HPV No evaluable N=280 (43%)
Hipofaringe	13%	14%	8%	16%	13%
Laringe	30%	32%	28%	33%	27%
Cavidad oral	29%	27%	19%	29%	32%
Orofaringe	27%	28%	45%	23%	28%

Ejemplo 2

Efecto del estado de VPH en la terapia con panitumumab sobre la supervivencia global

Se examinó la supervivencia global de sujetos positivos para VPH y negativos para VPH en el ensayo. Las figuras 1 y 2 son curvas de supervivencia de Kaplan-Meier que resumen los resultados del estudio. Una comparación de las figuras 1 y 2 muestra que los sujetos cuyos tumores de HNSCC eran negativos para VPH que se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una potenciación de la supervivencia global con respecto a los sujetos cuyos tumores de HNSCC eran positivos para VPH.

Más particularmente, los sujetos cuyos tumores eran positivos para VPH y se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una mediana de supervivencia global de 10,9 meses, mientras que los sujetos cuyos tumores eran negativos para VPH y se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una mediana de supervivencia global de 11,8 meses. También se indica que los sujetos cuyos tumores eran negativos para VPH y se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una potenciación de la mediana de supervivencia global de 3,1 meses con respecto a los sujetos que recibieron quimioterapia sola.

En la tabla 3 se resumen los factores de pronóstico independientes para la supervivencia global:

Tabla 3

Factores de pronóstico independientes para la supervivencia global

	Factor	HR	Valor de p
Negativo para VPH	ECOG (0 frente a 1/2)	0,66	0,004
	CT o RT previamente (sí frente a no)	1,345	0,078
	Platino previo (sí frente a no)	1,246	0,097
Positivo para VPH	ECOG (0 frente a 1/2)	0,567	0,03
	Paquetes-años (>10 frente a <=10)	1,963	0,011

>5% de pérdida de peso invol. los últimos 6 meses (sí frente a no)	2,542	0,002
Platino previo (sí frente a no)	1,498	0,096

Ejemplo 3

Efecto del estado de VPH en la terapia con panitumumab sobre la supervivencia libre de progresión

5 Se examinó la supervivencia global de sujetos positivos para VPH y negativos para VPH en el ensayo. Las figuras 3 y 4 son curvas de supervivencia de Kaplan-Meier que resumen los resultados del estudio. Una comparación de las figuras 3 y 4 muestra que los sujetos cuyos tumores de HNSCC eran negativos para VPH que se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una potenciación de la supervivencia libre de progresión con respecto a los sujetos cuyos tumores de HNSCC eran positivos para VPH.

10 Más particularmente, los sujetos cuyos tumores eran positivos para VPH y se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una mediana de supervivencia libre de progresión de 5,5 meses, mientras que los sujetos cuyos tumores eran negativos para VPH y se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una mediana de supervivencia global de 6,3 meses. También se indica que los sujetos cuyos tumores eran negativos para VPH y se trataron con panitumumab y quimioterapia mostraron una potenciación de la mediana de supervivencia global de 1,2 meses con respecto a los sujetos que recibieron quimioterapia sola.

Resumen de los ejemplos 1-3

15 Se determinó el estado de VPH en el 57% de los 657 sujetos incluidos en el ensayo. Se encontró que el 21% de los sujetos con HNSCC para los que se determinó el estado de VPH eran positivos para VPH. Los datos muestran que el tratamiento con panitumumab y quimioterapia mejoró la supervivencia global en sujetos en los que se determinó que sus tumores eran negativos para VPH con respecto a los sujetos cuyos tumores eran positivos para VPH en una mediana de 0,9 meses. Los datos muestran que el tratamiento con panitumumab y quimioterapia mejoró la supervivencia libre de progresión en sujetos en los que se determinó que sus tumores eran negativos para VPH con respecto a los sujetos cuyos tumores eran positivos para VPH en una mediana de 0,8 meses.

**REIVINDICACIONES**

1. Método de predicción de si un paciente que tiene un tumor se beneficiará de un tratamiento que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, que comprende determinar si el tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH, en el que si el tumor del paciente es negativo para VPH, se predice que el paciente se beneficia del tratamiento con un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr, en el que el agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr es un anticuerpo frente a EGFr.
2. Método según la reivindicación 1, en el que la determinación comprende determinar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra de tumor obtenida del paciente, en el que la presencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es positivo para VPH y la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.
3. Método según la reivindicación 1, en el que el anticuerpo frente a EGFr es panitumumab.
4. Método según la reivindicación 2, en el que la determinación de la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor comprende realizar un ensayo de inmunohistoquímica (IHC) para identificar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra del tumor.
5. Método según la reivindicación 1, en el que el tumor es un tumor localmente avanzado o un tumor metastásico recurrente; preferiblemente en el que el tumor se selecciona del grupo que consiste en un tumor orofaríngeo, un tumor de laringe, un tumor de la cavidad oral y un tumor de la hipofaringe.
6. Anticuerpo monoclonal que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para su uso en un método de prolongación de la supervivencia global y/o libre de progresión de un paciente que tiene un tumor que se ha determinado que es negativo para VPH, en el que se determina que el tumor es negativo para VPH determinando la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor obtenido del paciente, en el que la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.
7. Anticuerpo monoclonal que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que se ha determinado que es negativo para VPH, en el que se determina que el tumor es negativo para VPH determinando la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor obtenido del paciente, en el que la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.
8. Anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según la reivindicación 6 ó 7, en el que el anticuerpo frente a EGFr es panitumumab.
9. Anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según la reivindicación 6 ó 7, en el que la determinación de la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor comprende realizar un ensayo de inmunohistoquímica (IHC) para identificar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra del tumor.
10. Anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según la reivindicación 6 ó 7, en el que el tumor es un tumor localmente avanzado o un tumor metastásico recurrente; preferiblemente en el que el tumor se selecciona del grupo que consiste en un tumor orofaríngeo, un tumor de laringe, un tumor de la cavidad oral y un tumor de la hipofaringe.
11. Anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr para el uso según la reivindicación 6 ó 7, en el que se usa quimioterapia además del anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.
12. Método de estratificación de una población de pacientes que tienen un tumor que comprende:
  - (a) determinar si el tumor del paciente es positivo para VPH o negativo para VPH; y
  - (b) seleccionar pacientes cuyos tumores son negativos para VPH para el tratamiento con una terapia que comprende un agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr.
13. Método según la reivindicación 12, en el que la determinación comprende determinar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor obtenido del paciente, en el que la presencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es positivo para VPH y la ausencia de p16<sup>INK4A</sup> indica que el paciente es negativo para VPH.
14. Método según la reivindicación 12, en el que el agente que se une específicamente a un polipéptido de EGFr es un anticuerpo frente a EGFr; preferiblemente en el que el anticuerpo frente a EGFr es panitumumab.
15. Método según la reivindicación 12, en el que la determinación de la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en un tumor comprende realizar un ensayo de inmunohistoquímica (IHC) para identificar la presencia o ausencia de p16<sup>INK4A</sup> en una muestra del tumor.

16. Método según la reivindicación 12, en el que el tumor es un tumor localmente avanzado o un tumor metastásico recurrente; preferiblemente en el que el tumor se selecciona del grupo que consiste en un tumor orofaríngeo, un tumor de laringe, un tumor de la cavidad oral y un tumor de la hipofaringe.

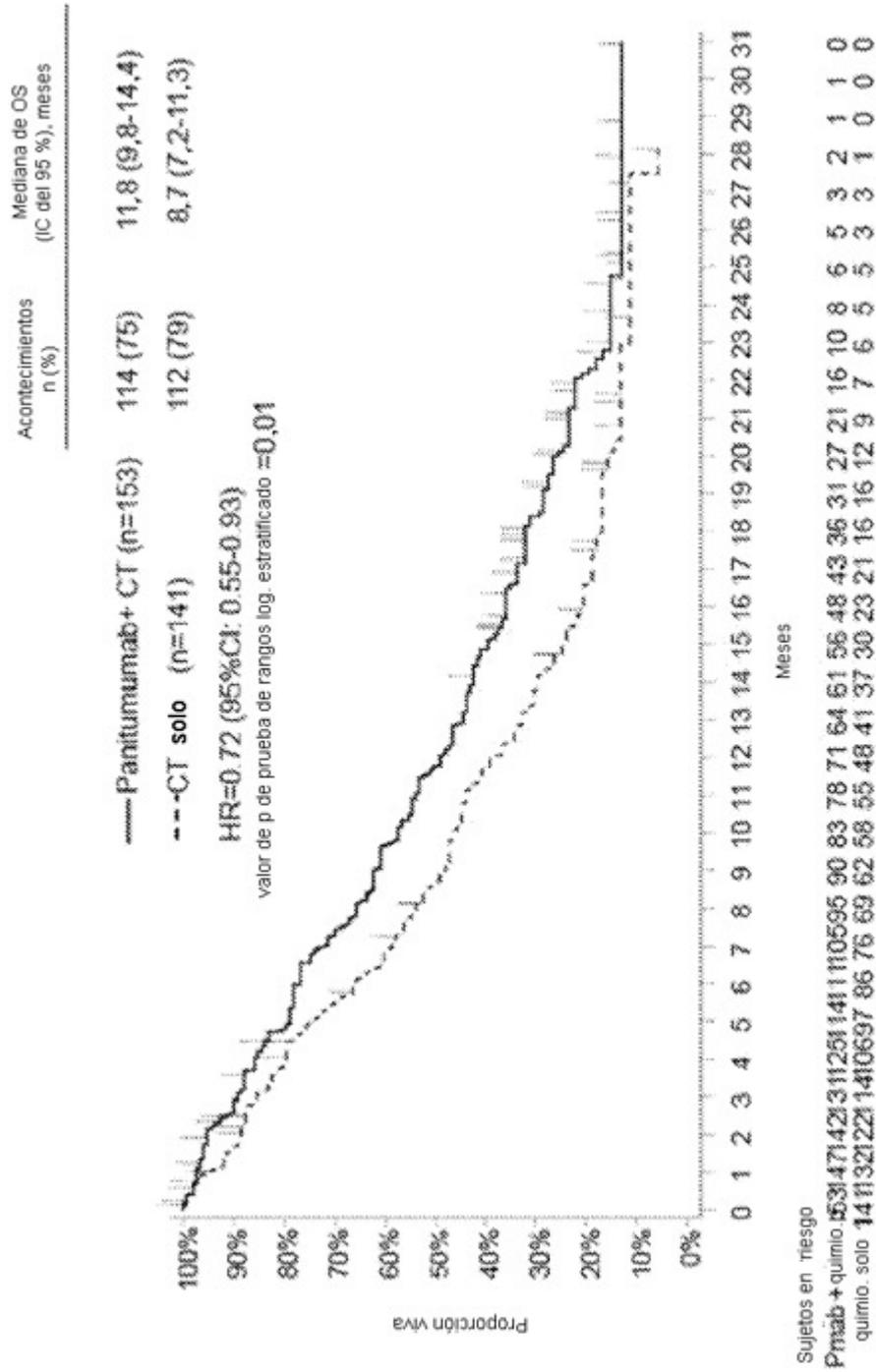


Figura 1

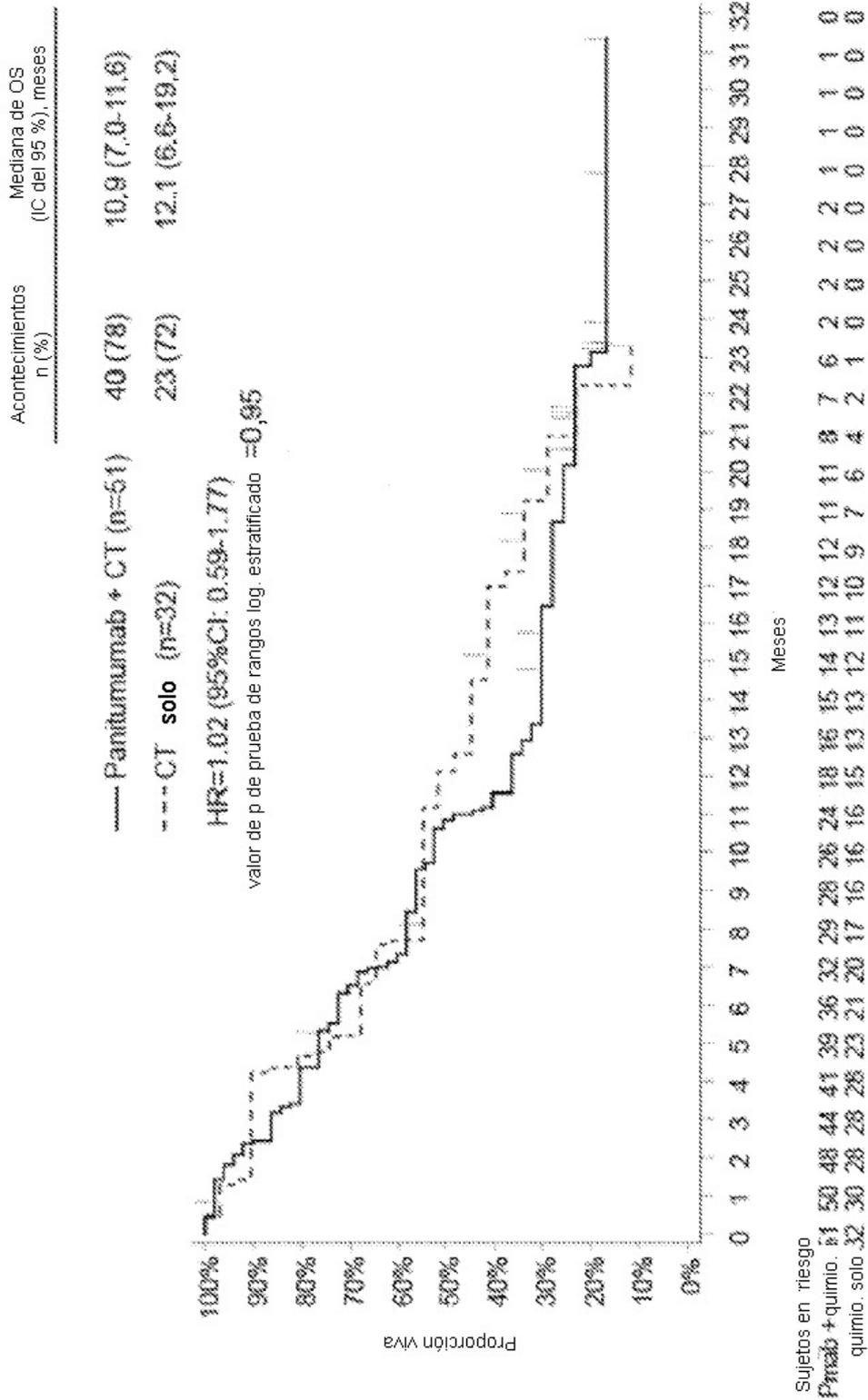


Figura 2



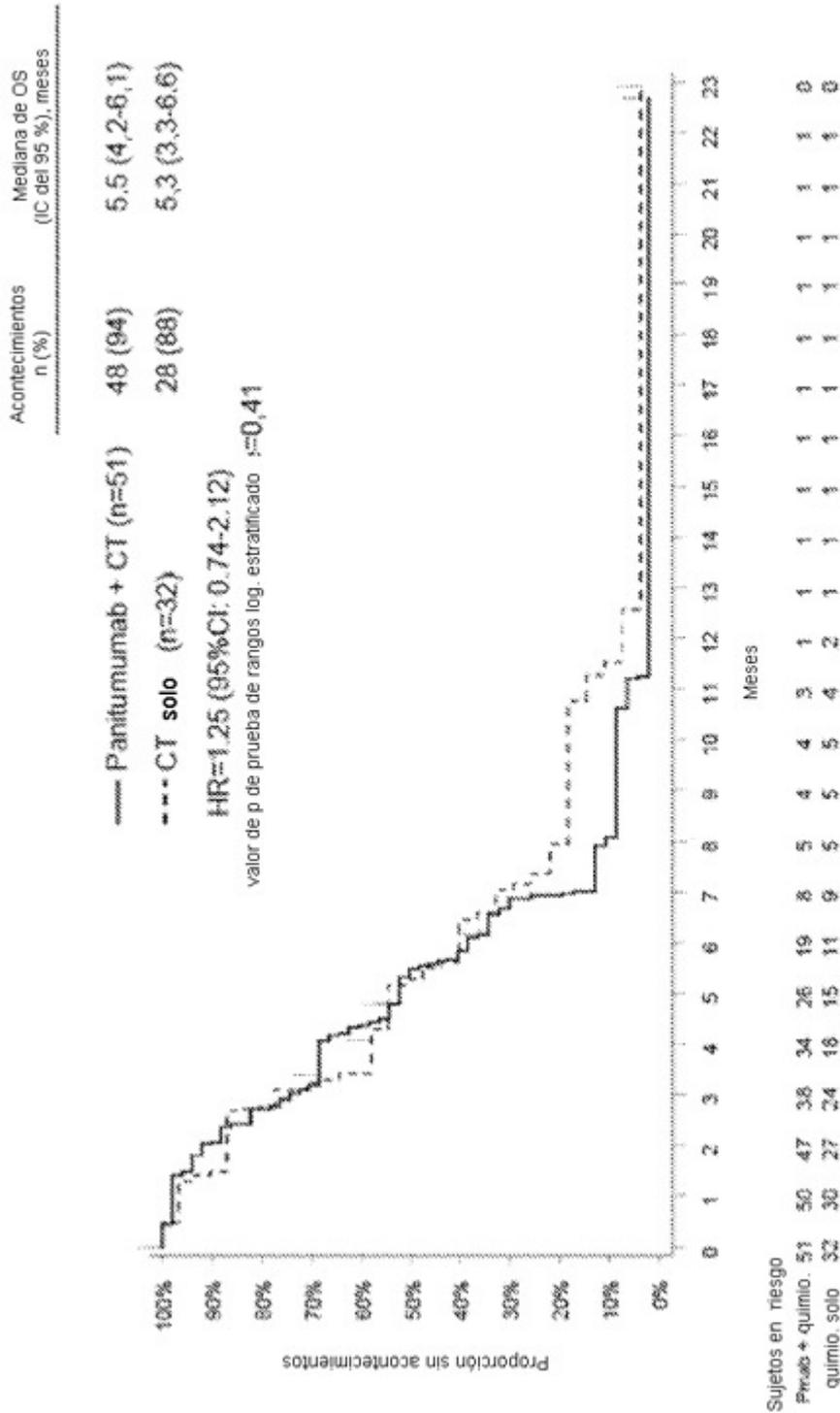
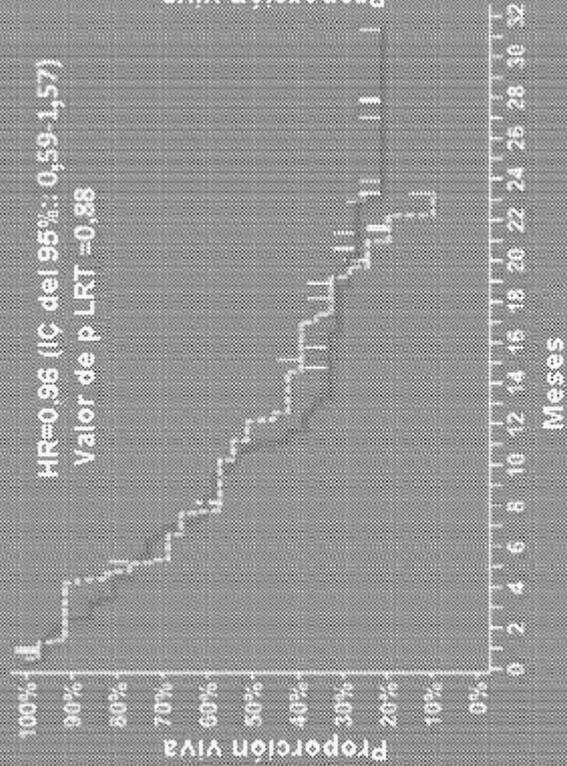


Figura 4

# Supervivencia global mediante estado de VPH

## Positivo para VPH



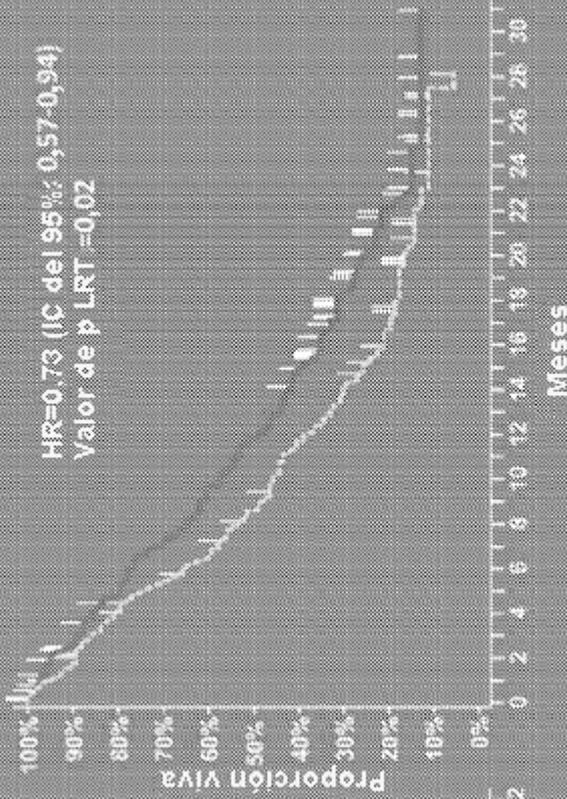
Mediana de OS  
(IC del 95%) mos

Pmab + CT (N=56) 10,9 (7,1-12,6)

----- CT solo (N=37) 12,1 (7,6-17,4)

HR ajustado por covariables = 1,031 (IC del 95%: 0,60 – 1,77)

## Negativo para VPH



Mediana de OS  
(IC del 95%) mos

Pmab+ CT (N=165) 11,8 (9,8-14,0)

----- CT solo (N=153) 8,6 (6,9-11,3)

HR ajustado por covariables = 0,725 (IC del 95%: 0,56, 0,94)

Figura 5 Valor de p de la prueba de interacción cuantitativa = 0,332

# Supervivencia libre de progresión mediante estado de VPH

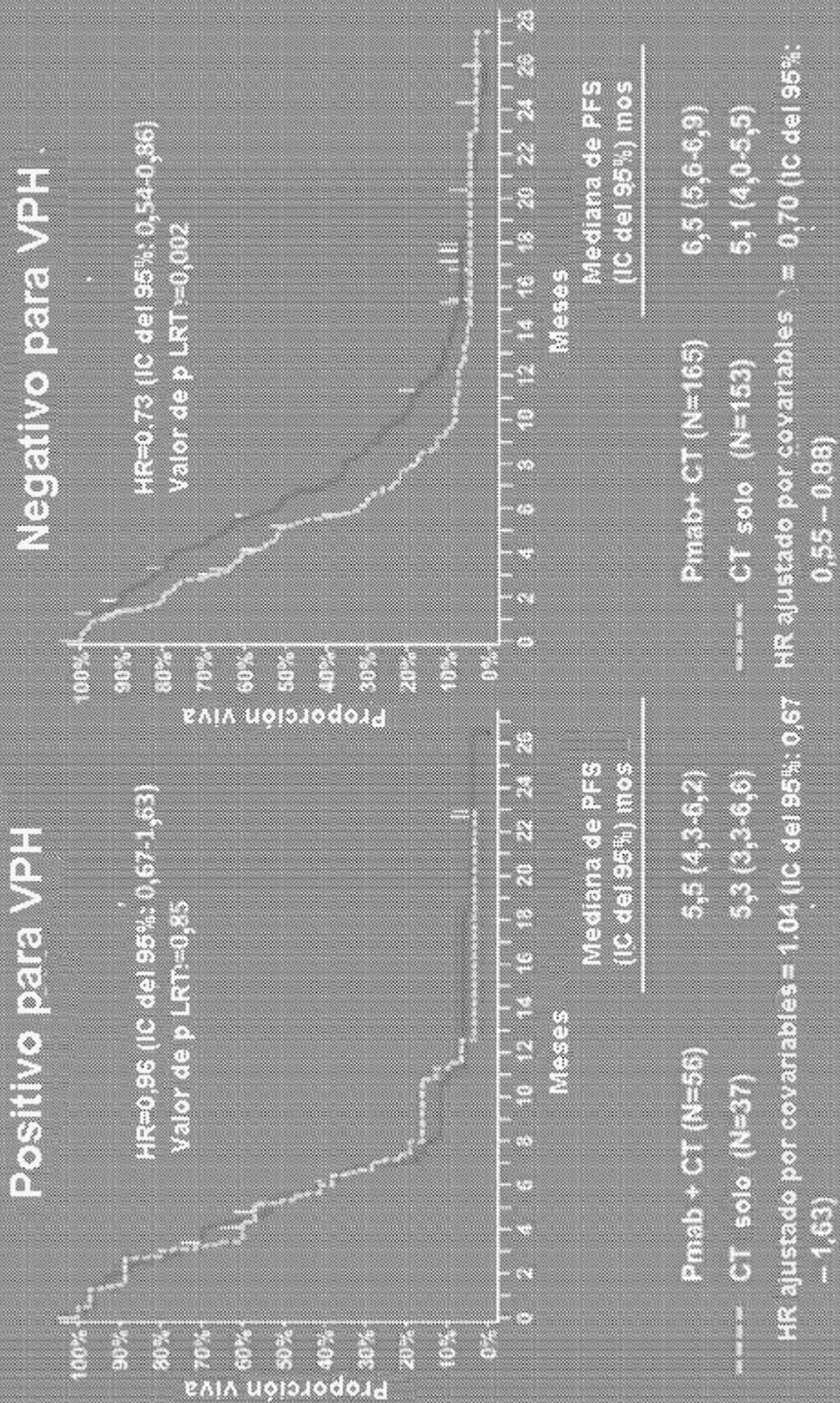


Figura 6 Valor de p de la prueba de interacción cuantitativa = 0,097