

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 377**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.03.2007 PCT/US2007/005265**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2007 WO07103112**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.03.2007 E 07751993 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2017 EP 1991267**

54 Título: **Métodos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes con natalizumab**

30 Prioridad:

03.03.2006 US 779190 P

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

12.04.2018

73 Titular/es:

**BIOGEN MA INC. (100.0%)
225 Binney Street
Cambridge, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

YEDNOCK, THEODORE, A.

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 663 377 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

Métodos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes con natalizumab

- 5 El objeto de la invención se refiere a métodos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes mediante un anticuerpo recombinante. Estos métodos mejoran la seguridad del tratamiento ajustando la dosis basada en los anticuerpos IgG4 del paciente.

10 Se conoce que la migración de linfocitos de la sangre periférica a través de la barrera hematoencefálica puede iniciar el desarrollo de varias enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (SNC). La entrada de linfocitos en el SNC está mediada por moléculas de adhesión celular (O'Neill et al., *Immunology* 72:520-525 (1991); Raine et al., *Lab. Invest.* 63:476-489 (1990); Yednock et al., *Nature* 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Steffen et al., *Am. J. Path.* 145:189-201 (1994); Christensen et al., *J. Immunol.* 154:5293-5301 (1995)).

15 Las moléculas de adhesión celular presentes en la superficie celular median el enlace de una célula a otra (Long et al., *Exp. Hematol.* 20:288-301 (1992)). Las familias de supergenes de inmunoglobina e integrina de moléculas de adhesión regulan el tráfico de linfocitos en el SNC (Hemler et al., *Annu. Rev. Immunol.* 8:365-400 (1990); Springer et al., *Cell* 76:301-314 (1994); Issekutz et al., *Curr. Opin. Immunol.* 4:287-293 (1992)). Se conoce ampliamente que las moléculas de adhesión median en las enfermedades inflamatorias y autoinmunes, como es el asma, la enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, SIDA demencia, diabetes, enfermedad intestinal inflamatoria, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, rechazo de tejido trasplantado, y metástasis de tumores.

20 Las integrinas son hereodímeros de cadenas α y β con enlaces no covalentes (Hemler et al., *Annu. Rev. Immunol.* 8:365-400 (1990)). Las integrinas $\alpha 4 \beta 1$ (también llamadas antígeno-4 VLA-4 de activación muy tardía) y $\alpha 4 \beta 7$ se hallan presentes en la superficie de la mayoría de los tipos de leucocitos, donde median en el enlace de los leucocitos con células endoteliales mediante interacción con sus receptores afines, la molécula-1 (VCAM-1) de adhesión vascular y la molécula-1 (MAdCAM-1) de adhesión celular adreína mucosa, en la superficie endotelial de la célula. Se piensa que las integrinas desempeñan un papel importante en la adhesión de las células inmunes a la capa de células endoteliales en los vasos sanguíneos, facilitando su posterior migración a los tejidos inflamados.

30 Varios estudios involucran a VLA-4, y en particular a la subunidad integrina $\alpha 4$, en la inflamación del SNC (Yednock et al., *Nature* 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Steffen et al., *Am. J. Path.* 145:189-201 (1994); Christensen et al., *J. Immunol.* 154:5293-5301 (1995)). También se ha señalado que la expresión de VCAM-1 es alta en el tejido cerebral inflamado en comparación con el tejido cerebral normal (Cannella and Raine, *Ann. Neurol.* 37:424-435 (1995); Washington et al., *Ann. Neurol.* 35:89-97 (1994); Dore-Duffy et al., *Frontiers in Cerebral*

35 *Vascular Biology: Transport and Its Regulation*, 243-248 (Eds. Drewes & Betz, Plenum, N.Y. 1993)).

La interacción entre $\alpha 4 \beta 1$ y sus objetivos es un componente de la inflamación que ocurre en el SNC de pacientes con esclerosis múltiple (EM). En condiciones normales, no se expresa VCAM-1 en el parénquima cerebral. Sin embargo, en presencia de citoquinas pro-inflamatorias VCAM-1 se ve aumentada en células endoteliales y

40 microgliales cerca de los sitios de inflamación (Elices et al., *Cell* 60:577-584 (1990); Lobb and Hemler, *J. Clin. Invest.* 94:1722-1728 (1994); Peterson et al., *J. Neuropathy Exp. Neurol.* 61:539-546 (2002)). Además, la osteopontina, que comparte muchas propiedades con una citoquina proinflamatoria, también está aumentada en lesiones de EM (Chabas et al., *Science* 294:1731-1735 (2001)).

45 La EM es una enfermedad seria e incapacitante de los adultos jóvenes, con una edad pico de aparición en la tercera década de la vida. La mayoría de las personas presentan la forma remitente-recidivante y padecen ataques recurrentes que al cabo del tiempo conllevan una discapacidad física acumulada y deterioro cognitivo. Aproximadamente un 70% de estas personas entrarán en un estadio de deterioro neurológico progresivo (EM progresiva secundaria) con o sin recaídas añadidas. Los tratamientos actuales tienen una eficacia mínima para la

50 EM progresiva secundaria. La mayoría de los pacientes sufren disfunciones neurológicas permanentes y, de media, tienen una esperanza de vida de seis o siete años tras la aparición de la enfermedad.

En la actualidad hay cuatro terapias aprobadas en los Estados Unidos para tratar las formas recidivantes de la EM. Las interferonas Betaseron® (interferona β -1b SC (subcutáneo)), AVONEX® (interferona β -1a IM (intramuscular)), y

55 Rebif® (interferona β -1a SC) son citoquinas con actividad antiviral, antiproliferativa e inmunomoduladora. El Copaxone® (acetato de glatirámico) es una combinación de polipéptidos sintéticos con un mecanismo de acción poco conocido. Las β -interferonas pueden tener efectos adversos graves, y ciertas evidencias sugieren que el Copaxone es ineficaz (Munari, et al., *The Cochrane Library*, Issue 1, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. (2004)).

60

Se han reportado efectos adversos graves de las β -interferonas que en casos raros incluyen reacciones de hipersensibilidad, depresión y suicidio, recuento sanguíneo periférico disminuido, lesión hepática, cardiomiopatía y varios trastornos autoinmunes (Betaseron Package Insert, 2003; Rebif Package Insert, 2004; AVONEX® Package Insert, 2005). El desarrollo de anticuerpos neutralizantes de las interferonas se asocia a una pérdida de eficacia. Los anticuerpos desarrollados para una β -interferona dado tienen reacción cruzada con otras interferonas, generando pérdida de eficacia para la clase completa en estos pacientes (IFNB MS Study Group, *Neurology* 47:889-894 (1996); PRISMS Study Group, *Neurology* 56:1628-1636 (2001); Kappos et al., *Neurology* 65:40-47 (2005)). Por este motivo solo en los Estados Unidos más de 50.000 pacientes que recibían tratamiento ya no lo reciben. Por lo tanto hay un gran grupo de pacientes con EM activa que no reciben ningún tipo de terapia aprobada en este momento.

Entre los pacientes que sí reciben tratamiento, muchos siguen experimentando actividad de la enfermedad, según observaciones clínicas e imágenes por resonancia magnética (RM). Aunque se utilizan diversas estrategias terapéuticas en la práctica clínica para manejar la enfermedad que se manifiesta durante el tratamiento (como cambiar de terapia, la dosis y frecuencia de interferona, terapias combinadas), la eficacia similar de los medicamentos disponibles y la falta de datos clínicos que demuestren la eficacia de estas estrategias en pacientes con enfermedad activa hace que la decisión de qué hacer sea principalmente empírica. Cada uno de los medicamentos aprobados con eficacia parcial consigue una reducción de aproximadamente un 30% en la tasa de recidiva y un impacto limitado en el avance de la discapacidad (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998)); Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Datos de los ensayos en fase 3 de β -interferon en EM muestran que de 62% a 75% de los sujetos experimentan al menos una recaída durante los ensayos de 2 años a pesar del tratamiento con interferona (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998)). Asimismo, un 66% de los sujetos en el ensayo para EM en fase 3 de acetato de glatirámico experimentaron al menos una recaída en el período de dos años, no significativamente diferente del placebo (Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)).

La Leucoencefalopatía Multifocal Progresiva (LMP) es una enfermedad grave con progresión rápida que destruye la capa de mielina que protege a las células nerviosas. La LMP aparece casi exclusivamente en pacientes inmunosuprimidos y frecuentemente está asociada con enfermedad linfoproliferativa y otras enfermedades crónicas, como SIDA, enfermedad de Hodgkin, leucemia linfocítica crónica, sarcoidosis, tuberculosis, lupus eritematoso sistémico, y trasplante de órganos. El virus JC (VJC) es el agente etiológico de la LMP y puede aparecer por una infección primaria o tras reactivación de virus latente.

Natalizumab, un antagonista de $\alpha 4$ -integrina, se ha empleado con éxito para tratar enfermedades con componentes inflamatorios y/o autoinmunes, como EM, enfermedad de Crohn, y artritis reumatoide. El natalizumab es un anticuerpo monoclonal IgG₄κ humanizado dirigido contra las $\alpha 4$ -integrinas $\alpha 4\beta 1$ y $\alpha 4\beta 7$. El intercambio de cadenas entre natalizumab y otras moléculas IgG₄ puede afectar la farmacocinética del natalizumab. Las diferencias en concentraciones de IgG₄ entre pacientes o en un paciente a lo largo del tiempo puede conllevar diferencias en la concentración de natalizumab bivalente suministrado a lo largo de un período de administración. Esto puede resultar en variaciones en seguridad y/o eficacia entre pacientes o en un paciente en distintos períodos de administración.

La variación en los niveles de IgG₄ también pueden conllevar un exceso de actividad de natalizumab en algunos pacientes. Esto puede resultar en un mayor riesgo de infección en estos pacientes. Por ejemplo, hay tres casos conocidos de aparición de LMP durante o después de la administración de natalizumab, dos de los cuales resultaron mortales mientras que en otro el paciente se recuperó. Los tres casos se dieron en pacientes con medicación concomitante que puede haber contribuido a la inmunosupresión.

Por lo tanto, en la técnica es necesario determinar la relación entre los niveles de IgG₄ y la farmacocinética de natalizumab, y ajustar la dosis e intervalos de administración de natalizumab en algunos pacientes en vista de esta información para mejorar la seguridad y/o eficacia del tratamiento con natalizumab.

US2004009169 describe la administración de agentes para tratar la inflamación. Schuurmann et al. (1999) *Immunology* vol 97(4):693-698 describe la inmunoglobulina G4 humana normal.

55 RESUMEN

La invención proporciona usos más seguros de natalizumab para el tratamiento de pacientes con enfermedades inflamatorias y autoinmunes.

Un primer aspecto de la invención es proporcionar natalizumab para su uso en un método de tratamiento de

enfermedades inflamatorias o autoinmunes mediante la administración de una primera dosis de natalizumab en un primer período de administración; controlar la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración; determinar una segunda dosis de natalizumab según el nivel de natalizumab bivalente observado; y administrar una segunda dosis de natalizumab durante un segundo período de administración; donde si el control muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente se mantiene por encima de un nivel preestablecido durante el primer período de administración, la segunda dosis de natalizumab administrada en el segundo período de administración están diseñada para que se reduzca el nivel de natalizumab durante el segundo período de administración por debajo del nivel preestablecido durante al menos parte del segundo período de administración; y donde la segunda dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento durante el segundo período de administración; y donde el nivel preestablecido de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente en el primer período de administración se selecciona entre 0.1 µg/mL, 0.5 µg/mL, y 1 µg/mL.

En una realización la segunda dosis es menor que la primera dosis. En una realización el segundo período de administración es menor que el primer período de administración. En una realización la segunda dosis es menor que la primera dosis, y donde el segundo período de administración es mayor que el primer período de administración. En una realización la primera dosis es de 300 mg administrada por infusión IV y el primer período de administración es de cuatro semanas. En una realización el nivel preestablecido es de aproximadamente 1 µg/ml, y la segunda dosis es menor de 300 mg administrada por infusión IV y el segundo período de administración es mayor de cuatro semanas. En una realización el nivel preestablecido es de aproximadamente 0,5 µg/ml, y donde la segunda dosis es menor de 300 mg administrada por infusión IV y el segundo período de administración es mayor de cuatro semanas. En una realización el nivel preestablecido es de aproximadamente 0,1 µg/ml, y donde la segunda dosis es menor de 300 mg administrada por infusión IV y el segundo período de administración es mayor de cuatro semanas.

En una realización la enfermedad es esclerosis múltiple. En una realización la esclerosis múltiple se selecciona entre recidivante remitente, progresiva secundaria, progresiva primaria, y progresiva crónica. En una realización la enfermedad es enfermedad intestinal inflamatoria o artritis reumatoide. En una realización la enfermedad intestinal inflamatoria es la enfermedad de Crohn.

En una realización el método además incluye controlar en el paciente indicadores de infección severa y/o tratar al paciente profilacticamente para reducir el riesgo de infección severa.

En una realización el método además incluye controlar en el paciente posibles indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una realización el control detecta VJC en la orina, sangre y/o líquido cefalorraquídeo del paciente. En una realización el control además incluye la obtención repetida de muestras de la sangre del paciente, medir la cantidad de anticuerpos IgG contra VJC en las muestras y comparar la cantidad de anticuerpos en las muestras. En una realización el control además incluye medir la cantidad de anticuerpos IgM contra VJC en las muestras y comparar la cantidad de anticuerpos IgM e IgG en las muestras. En una realización el control detecta la seroconversión y/o titulación elevada de VJC en la orina o sangre del paciente, e incluye tomar una muestra de líquido cefalorraquídeo cuando la comparación de las muestras de orinas y/o sangre sucesivas muestran seroconversión y/o titulación elevada de VJC; y comprobar la presencia de VJC en el líquido cefalorraquídeo. En una realización el control incluye la comprobación de síntomas clínicos y/o radiológicos de leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una realización la comprobación de síntomas clínicos incluye comprobar si hay nuevos síntomas o si los síntomas neurológicos empeoran. En una realización los síntomas neurológicos incluyen uno o más de entre ceguera central, confusión mental, cambio de personalidad y disquinesia. En una realización el control de síntomas radiológicos incluye la obtención de una imagen por resonancia magnética realizada por Gd. En una realización el método incluye en la presencia de indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva, proporcionando al menos un tratamiento seleccionado entre terapia inmunoglobulina intravenosa, plasmaféresis, y terapia antivírica. En una realización la terapia antiviral incluye la administración de al menos una dosis terapéuticamente eficaz de un agente antivirico seleccionado entre arabinósodo de citosina (cytarabine), cidofovir, y un antagonista de serotonina. En una realización el antagonista de serotonina es un antagonista 5HT2a.

En una realización el paciente no recibe tratamiento simultáneo con natalizumab y un inmunosupresor o un agente antineoplásico. En una realización el inmunosupresor o agente antineoplásico se selecciona entre uno o más de clorambucilo, melfalan, 6-mercaptopurina, tiotepa, ifofamida, dacarbacina, procarbocina, temozolomida, hexametylmelamina, doxorubicina, daunarubicina, idarubicina, epirubicina, irinotecán, metotrexato, etoposida, vincristina, vinblastina, vinorelbina, cytarabina, busulfano, amonifida, 5-fluorouracilo, topotecán, mustargen, bleomicina, lomustina, semustina, mitomicina C, mutamicina, cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, methotrexato, trimetrexato, raltitrexido, flurorodesoxiuridina, capecitabina, ftorafur, 5-etiyniluracilo, 6-tioguanina, cladribina, pentostatina, teniposida, mitoxantrona, losoxantrona, actinomicina D, vindesina, docetaxel, amifostina, interferon

- alfa, tamoxifeno, medroxiprogesterona, megestrol, raloxifeno, letrozol, anastrozol, flutamida, bicalutamida, ácidos retinoicos, trióxido de arsénico, rituximab, CAMPATH-1, mylotarg, ácido micofenólico, tacrolimus, glucocorticoides, sulfasalacina, glatiramero, fumarato, laquinimod, FTY-720, interferon tau, daclizumab, infliximab, IL10, anticuerpo receptor anti-IL2, anticuerpo anti-IL-12, anticuerpo receptor anti-IL6 , CDP-571, adalimumab, entanercept,
- 5 leflunomida, anticuerpo anti-interferon gamma, abatacept, fludarabina, cyclofosfamida, azatioprina, cyclosporina, inmunoglobulina intravenosa, 5-ASA (mesalamina), y una β -interferona, donde, si la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente es menor de 200 $\mu\text{g/mL}$, la primera dosis es menor de 300 mg por infusión IV y/o el período de tratamiento es mayor de cuatro semanas;
- 10 En otro aspecto la invención proporciona natalizumab para su uso en un método para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria o autoinmune mediante la determinación de la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente; administrando una primera dosis de natalizumab en un primer período de administración controlando el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración; determinando una segunda dosis y segundo período de administración de natalizumab según la cantidad de IgG4 en
- 15 el plasma o suero del paciente; y administrando la segunda dosis de natalizumab durante el segundo período de administración; donde si el control muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente se mantiene por encima de un nivel preestablecido durante el primer período de administración, la segunda dosis de natalizumab administrada en el segundo período de administración está diseñada para conseguir una reducción del nivel de natalizumab en el segundo período de administración por debajo del nivel preestablecido
- 20 durante al menos parte del segundo período de administración; donde la segunda dosis y el segundo período de administración mejoran la seguridad y/o eficacia del tratamiento; donde el nivel preestablecido de natalizumab bivalente en el suero o plasma del paciente en el primer período de administración se selecciona entre 0,1 $\mu\text{g/mL}$, 0,5 $\mu\text{g/mL}$, y 1 $\mu\text{g/mL}$; y donde la segunda dosis es menor de 300 mg por infusión IV y/o el período de administración es mayor de cuatro semanas si el nivel de IgG4 en el plasma o suero del paciente durante el primer período de
- 25 administración es menor de 200 $\mu\text{g/mL}$. En una realización la primera dosis de natalizumab es de 300 mg administrado por infusión IV durante un primer período de administración de cuatro semanas. En una realización el nivel preestablecido es aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$. En una realización el nivel preestablecido es aproximadamente 0,5 $\mu\text{g/ml}$. En una realización el nivel preestablecido es aproximadamente 0,1 $\mu\text{g/ml}$. En una realización la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 200 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis establecida de natalizumab es menor de 300 mg
- 30 por infusión IV. En una realización la sangre del paciente es menor de 200 $\mu\text{g/ml}$ y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas. En una realización la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 200 $\mu\text{g/ml}$, la dosis establecida de natalizumab es menor de 300mg por infusión IV, y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas. En una realización la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 100 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis establecida de natalizumab es menor de 300 mg por infusión IV. En una realización la
- 35 cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 100 $\mu\text{g/ml}$ y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas. En una realización la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 100 $\mu\text{g/ml}$, la dosis establecida de natalizumab es menor de 300mg por infusión IV, y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas. En una realización la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 15 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis establecida de natalizumab es menor de 300 mg por infusión IV. En una realización la cantidad de
- 40 IgG4 en la sangre del paciente es menor de 15 $\mu\text{g/ml}$ y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas. En una realización la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 15 $\mu\text{g/ml}$, la dosis establecida de natalizumab es menor de 300mg por infusión IV, y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas. En una realización la dosis estandar de natalizumab es 300 mg por infusión IV y el período estándar de administración es de cuatro semanas.
- 45 En otra realización la segunda dosis es menor que la primera dosis, o el segundo período de administración es mayor que el primer período de administración, o la segunda dosis es menor que la primera dosis y el segundo período de administración es mayor que el primer período de administración. En una realización la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente cae por debajo de un nivel preestablecido durante el primer
- 50 período de administración en un tiempo preestablecido tras la administración de la primera dosis, y donde la segunda dosis de natalizumab administrada en el segundo período de administración está diseñada para mantener el nivel de natalizumab por encima del nivel preestablecido al menos hasta el tiempo preestablecido tras la administración de la segunda dosis durante el segundo período de administración.
- 55 En otra realización el método además incluye el control del paciente buscando indicadores de infecciones graves. En una realización la infección grave es leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una realización el método además incluye el tratamiento del paciente con profilaxis para reducir el riesgo de infección grave. En una realización la infección grave es leucoencefalopatía multifocal progresiva.
- 60 La presente invención y las realizaciones de la misma se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

Descripción de la invención

Definiciones

5

Los términos utilizados en la presente especificación tienen su sentido habitual, como se expone más adelante, y se pueden comprender mejor en el contexto del documento.

10

Un "paciente" o "sujeto", empleado indistintamente en este documento, es un ser humano a menos que se indique lo contrario.

15

"Tratamiento" significa cualquier administración o aplicación de remedios para enfermedades e incluye inhibir la enfermedad, detener su desarrollo, y aliviar la enfermedad, por ejemplo causando su regresión, o recuperando o reparando una función ausente o dañada, o estimando un proceso ineficaz.

"Terminar" significa una interrupción temporal o permanente.

"Dosis" significa la cantidad de natalizumab administrada al paciente.

20

"Período de administración" significa el tiempo transcurrido entre dos administraciones sucesivas de una dosis. El período de administración puede cambiar en una o más dosis sucesivas, o puede permanecer constante.

25

"Natalizumab" o "Natalizumab®" es un anticuerpo humanizado contra VLA-4 según viene descrito en las patentes de los Estados Unidos n.º 5.840.299y6.033.665. Se consideran además otros anticuerpos específicos para VLA-4, incluyendo de manera no limitante las inmunoglobulinas descritas en las patentes de los Estados Unidos n.º 6.602.503y6.551.593, y en la solicitud publicada de los Estados Unidos n.º 20020197233 por Relton et al. Estos anticuerpos se pueden preparar mediante los métodos mostrados en dichos documentos, por sistemas de expresión celular en mamíferos, y por sistemas de expresión de animales transgénicos, como cabras transgénicas.

30

Una "cantidad farmacéuticamente eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz", empleados indistintamente, es una cantidad suficiente para curar o al menos detener los síntomas de una enfermedad y/o las complicaciones de una enfermedad.

35

Un "antagonista de serotonina" es cualquier sustancia que disminuye uno o más efectos de la serotonina.

"Seroconversión" es el cambio de una prueba serológica de negativa a positiva, indicando la producción de anticuerpos.

40

"Títulación" es la concentración de un anticuerpo en una solución.

Anticuerpos IgG4

45

Los anticuerpos son proteínas empleadas por el sistema inmune para identificar y neutralizar cuerpos extraños, como bacterias y virus. Cada anticuerpo reconoce un único antígeno específico para su objetivo. Las inmunoglobulinas son glicoproteínas de la superfamilia de las inmunoglobulinas que funcionan como anticuerpos. Se sintetizan y liberan por células del plasma derivadas de las células B del sistema inmune. Las células B se activan al unirse a su antígeno específico y se diferencian en células plasmáticas. En algunos casos la interacción de la célula B con una célula T colaboradora también es necesaria.

50

Las inmunoglobulinas son proteínas plasmáticas pesadas, a menudo con cadenas de azúcar añadidas con terminal N (todos los anticuerpos) y a veces residuos amino ácidos con terminal O (IgA1 y IgD). La unidad básica de cada anticuerpo es un monómero. Un anticuerpo puede ser un monómero, dímero, trímero, tetrámero, pentámero, etc. El monómero es una molécula con forma de Y que consiste en dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas, unidas por enlaces de disulfuro.

55

Hay cinco tipos de cadena pesada: γ , δ , α , μ y ϵ . Estos definen clases de inmunoglobulinas. Las cadenas pesadas α y γ tienen unos 450 aminoácidos, mientras que las μ y ϵ tienen unos 550 aminoácidos. Cada cadena pesada tiene una región constante que es igual para todas las inmunoglobulinas de la misma clase, y una región variable que es distinta para inmunoglobulinas de células B distintas, pero igual para todas las inmunoglobulinas producidas por la misma célula B. Las cadenas pesadas γ , α y δ tienen una región constante con tres dominios y una región bisagra.

60

La región constante de las cadenas pesadas μ y ϵ tienen cuatro dominios. El dominio variable de cualquier cadena pesada se compone de un dominio. Estos dominios tienen una longitud de unos 110 aminoácidos. También hay algunos aminoácidos entre los dominios constantes. Solo hay dos tipos de cadena ligera: λ y κ . En humanos son similares, pero solo un tipo está presente en cada anticuerpo. Cada cadena ligera tiene dos dominios sucesivos: uno constante y uno variable. La longitud aproximada de una cadena ligera es entre 211 a 217 aminoácidos.

El monómero se compone de dos cadenas pesadas y dos ligeras. En conjunto constituyen de seis a ocho dominios constantes y cuatro variables. La fragmentación enzimática con papaina crea dos fragmentos de unión antígeno (Fab, fragment antigen binding) y un fragmento cristalizante (Fc), mientras que la pepsina fragmenta por debajo de la región bisagra, formando un F(ab)₂ y un fragmento Fc. Por lo tanto, a cada mitad del extremo bifurcado del monómero en forma de Y se le llama el fragmento Fab. Se compone de un dominio constante y uno variable de cada una de las cadenas pesada y ligera, que juntos forman el sitio de unión al antígeno en el extremo amino terminal del monómero. Los dos dominios variables unen los antígenos para los que son específicos y que causaron su producción.

El fragmento Fc se compone de dos cadenas pesadas, cada una de las cuales contribuye dos o tres dominios constantes (dependiendo de la clase de anticuerpo). Se une a varias células receptoras y proteínas complementarias. De este modo, media en varios efectos fisiológicos de los anticuerpos (opsonización, lisis celular, desgranulación de mastocitos, basófilos y eosinófilos y otros procesos). Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras pueden fusionarse para formar un único fragmento variable de una cadena (scFv, single chain variable fragment) que mantiene la especificidad original de la inmunoglobulina de origen.

Las inmunoglobulinas se agrupan en cinco clases o isotipos basadas en diferencias entre los dominios constantes de cadena pesada: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. (Los isotipos también se definen por cadenas ligeras.) Otras células inmunes se unen a anticuerpos para eliminar patógenos dependiendo de cuales receptor de dominio de unión constante IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE se pueden expresar en su superficie.

Los anticuerpos producidos por un único linfocito B pueden tener cadenas pesadas distintas, y la célula B a menudo expresa distintas clases de anticuerpo al mismo tiempo. Sin embargo son idénticos en su especificidad por antígeno, que viene definida por su región variable. Para obtener el mayor número de especificidades que se necesitan para protegerse contra muchos antígenos extraños distintos, el cuerpo debe producir millones de linfocitos B.

IgG es una inmunoglobulina monomérica, constituida por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Cada molécula tiene dos sitios de unión de antígenos. Esta es la inmunoglobulina más abundante y está distribuida de manera aproximadamente uniforme en la sangre y líquidos corporales. Es el único isotipo que puede pasar a través de la placenta, protegiendo al feto en sus primeras semanas de vida antes de que éste desarrolle su propio sistema inmune. Se puede unir a muchos tipos de patógenos como virus, bacterias, y hongos, y protege al cuerpo contra éstos mediante activación de complemento (ruta clásica), opsonización por fagocitosis y neutralización de sus toxinas. Hay 4 subclases: IgG1 (66%), IgG2 (23%), IgG3 (7%) e IgG4 (4%). IgG1, IgG3 e IgG4 pueden cruzar la placenta con facilidad. IgG3 es el activador de complemento más eficaz, seguido por IgG1 y después IgG2. IgG4 no activa el complemento. IgG1 e IgG3 se unen con alta afinidad a los receptores Fc en las células fagocíticas. IgG4 tiene una afinidad intermedia mientras que la afinidad de IgG2 es muy baja.

Se conoce desde hace tiempo que los anticuerpos de inmunoglobulina G4 (IgG4) son monovalentes funcionalmente. Recientemente se ha explicado la base estructural de esta monovalencia: intercambio *in vivo* de medias moléculas de IgG (una cadena H y una cadena L) entre IgG4. Este proceso produce anticuerpos biespecíficos que en la mayoría de los casos funcionarán como anticuerpos funcionalmente monovalentes. La base estructural del comportamiento anómalo de IgG4 se debe en gran medida a un cambio de un único aminoácido con respecto a la IgG1 humana: el cambio de una prolina en la bisagra del núcleo, de IgG1 a serina. Esto causa un cambio importante en el equilibrio entre los puentes disulfuro intercadena y los puentes disulfuro intracadena, que en IgG4 provoca una ausencia de interacción covalente entre las cadenas H de 25-75%. Debido a fuertes interacciones no covalentes entre los dominios CH3 (y posiblemente también entre el dominio CH1 y el dominio *trans*-CH2), IgG4 forma una molécula estable de cuatro cadenas que no intercambia medias moléculas fácilmente en condiciones estándar fisiológicas *in vitro*. El intercambio se puede catalizar *in vivo* por la proteína disulfuro-isomerasa (PDI) y/o FcRn (el receptor Fc relacionado con el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC)) en el tránsito de IgG4 en la ruta endosómica en células endoteliales, o por un mecanismo desconocido. Dado que IgG4 se expresa predominantemente en condiciones de exposición crónica a antígenos, la relevancia biológica de este intercambio de medias moléculas es que genera anticuerpos que son incapaces de formar grandes complejos inmunes y por lo tanto tienen poco potencial para inducir inflamación inmune. Al contrario que los fragmentos monovalentes de inmunoglobulina, estas inmunoglobulinas revueltas tienen una vida media normal. La importancia de la

biespecificidad obtenida requiere mayor estudio, ya que será relevante solo cuando haya una respuesta alta de IgG4 a dos antígenos no relacionados que estén presentes en el cuerpo simultáneamente en el mismo lugar. En este contexto, es posible que haya que reconsiderar la importancia de la autoreactividad IgG4. Sin embargo, la principal función de IgG4 parece ser interferir con la inflamación inmune inducida por los anticuerpos que fijan los complementos, o en el caso de infección por helmintos o alergias, inducida por anticuerpos IgE.

La mayoría de los anticuerpos monoclonales consisten en un tipo de cadena L y cadena H y tienen dos sitios idénticos de unión de antígenos, lo que significa que cada molécula de anticuerpo monoclonal es bivalente. Sin embargo, en el caso de IgG4 el intercambio de media molécula *in vivo* crea anticuerpos que son biespecíficamente monovalentes. La evidencia experimental que apoya esta visión de la estructura de IgG4 *in vivo* incluye las observaciones de que los anticuerpos policlonales IgG4 no enlazan transversalmente dos antígenos, es decir, son funcionalmente monovalentes. Al contrario que un anticuerpo policlonal IgG4, el anticuerpo igG4 monoclonal (quimérico) sí enlaza transversalmente dos antígenos. Una fracción sustancial de IgG4 (tanto monoclonal como policlonal) carece de interacción covalente entre las cadenas pesadas, pero se mantiene como estructura de cuatro cadenas únicamente mediante enlaces no covalentes. Se pueden encontrar anticuerpos biespecíficos en el plasma que son en su mayoría, aunque no exclusivamente, de tipo IgG4. Desde un punto de vista cuantitativo el nivel de reactividad biespecífico se puede predecir del nivel de anticuerpos igG4 antígeno específicos.

Natalizumab

Natalizumab es un anticuerpo monoclonal IgG₄K humanizado recombinante dirigido contra las α 4-integrinas α 4 β 1 y α 4 β 7. Natalizumab contiene regiones estructurales humanas y las regiones determinantes de la complementariedad de un anticuerpo murino que se une a α 4-integrina. El peso molecular de natalizumab es de 149 kilodaltons.

Estudios de Yednock y otros han mostrado la eficacia clínica del bloqueo de la integrina α 4 en la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), un modelo animal de EM (Yednock et al., Nature 1992; 356:63-66 (1992); Baron et al., J. Exp. Med. 177:57-68 (1993); Kent et al., J. Neuroimmunol. 58:1-10 (1995); Brocke et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 96:6896-6901 (1999). Estos datos demostraron que el bloqueo de la integrina α 4 por un anticuerpo unido puede evitar la migración de leucocitos al cerebro y, por lo tanto, respaldan la hipótesis de que las integrinas α 4 son una diana en la terapéutica de la EM. Además, estas observaciones respaldan la hipótesis de que el bloqueo de la acumulación de leucocitos en el cerebro evitará la destrucción local de la mielina, la cubierta aislante que cubre las fibras nerviosas y las neuronas, que caracteriza las lesiones de la EM. Natalizumab es el primer anticuerpo dirigido a esta diana y los datos clínicos demuestran la relevancia de esta estrategia terapéutica.

Natalizumab pertenece a una clase emergente de agentes conocidos como inhibidores de la Molécula de Adhesión Selectiva (SAM). La unión de Natalizumab a α 4 β 1 (también llamada VLA-4) e integrinas α 4 β 7 inhibe sus interacciones moleculares con los receptores de integrina afines en las células endoteliales, VCAM-1 y MAdCAM-1, respectivamente. Al inhibir estas interacciones moleculares, el natalizumab evita el reclutamiento y la salida de los leucocitos hacia los sitios de inflamación. Otro mecanismo de acción de natalizumab puede ser suprimir las reacciones inflamatorias activas en tejidos enfermos al inhibir la interacción de los leucocitos que expresan α 4 con otros ligandos en la matriz extracelular (osteopontina y fibronectina) y en las células parenquimatosas, como las células microgliales (VCAM-1). Así, el natalizumab puede suprimir la actividad inflamatoria activa en el sitio de la enfermedad e inhibir el reclutamiento adicional de células inmunitarias en tejidos inflamados. Por lo tanto, tratar a los pacientes de EM con natalizumab puede bloquear la entrada de leucocitos mononucleares en el SNC y atenuar el proceso inflamatorio que produce desmielinización y daño axonal y, finalmente, proporcionar un beneficio clínico al reducir el número de recaídas clínicas y la progresión de la discapacidad, incluyendo la función motriz, visual y cognitiva.

Pharmacocinética de Natalizumab

Tras la administración intravenosa repetida de una dosis de 300 mg de natalizumab a pacientes con esclerosis múltiple, la concentración sérica máxima media observada fue de 98 ± 34 μ g/mL. Las concentraciones promedio de natalizumab en estado estacionario durante el período de administración fueron de aproximadamente 30 μ g/mL. La vida media de 11 ± 4 días se observó con un aclaramiento de 16 ± 5 mL/hora. El volumen de distribución de 5.7 ± 1.9 L fue consistente con el volumen de plasma.

Según se midió en un ensayo *in vitro* de saturación de receptores, el natalizumab, directamente del vial, satura los linfocitos en sangre completa a 0.3 a 1 μ g/ml. Este resultado es consistente con las observaciones de adhesión celular, en las que la adhesión estricta requiere 1 μ g/ml de natalizumab. Sin embargo, el mismo ensayo realizado para estudiar el natalizumab en muestras de suero de pacientes pareció requerir concentraciones mayores de 10

ug/ml. Este efecto puede deberse a que natalizumab intercambia uno de sus brazos IgG4 con otros anticuerpos IgG4 en el suero in vivo, lo que provoca una pérdida de avidéz y potencia. De acuerdo con trabajos realizados en otros anticuerpos de una cadena, este cambio fácilmente podría afectar la potencia en un factor de 100. Por lo tanto, cualquier actividad significativa de natalizumab en la sangre probablemente procedería de moléculas bivalentes que permanecen en la circulación después de llegar a un con la IgG4 endógena. Los datos indican que este proceso parece ocurrir de manera estequiométrica en un plazo relativamente corto (de horas a días). Por lo tanto, en cuestión de horas o días el nivel de natalizumab bivalente presente depende del nivel inicial de IgG4 endógeno.

Un rango típico de IgG4 endógena es de 200 a 1000 ug/ml en seres humanos. De acuerdo con cálculos de estequiometría, cuando el natalizumab está presente en 10 ug/ml (el típico nivel nadir en sangre después de una dosis de 300 mg administrada por vía IV durante un período de administración de cuatro semanas), el nivel de natalizumab bivalente oscilaría entre 0,02 y 0,24 ug/ml a niveles nadir (valor medio 0,12 ug/ml). Estos valores se ajustan muy bien a los niveles de saturación del receptor del 75-85% observados con natalizumab en muestras de pacientes a niveles nadir. La saturación funcional con natalizumab bivalente ocurre para 1 ug/ml. Sin embargo, el nivel de natalizumab bivalente aumenta de manera significativa con niveles menores de IgG4 endógena. Por ejemplo, para un nivel nadir de natalizumab de 10 ug/ml, en un paciente con 50 ug/ml de IgG4 endógena el nivel de natalizumab bivalente será ~1 ug/ml (o saturación). Por lo tanto, los pacientes con niveles de IgG4 endógena inferiores a unos 50 ug/ml, por ejemplo, pueden tener niveles crónicos de saturación de natalizumab durante todo el período de administración. A una concentración de IgG4 de aproximadamente 15 ug/ml, el nivel de natalizumab bivalente completamente funcional a niveles nadir sería de 2,5 ug/ml, muy por encima de la saturación del receptor. Si un individuo careciera completamente de IgG4, los niveles funcionales de natalizumab serían los mismos que los niveles nadir medidos, o aproximadamente 10 ug/ml en un paciente que recibe una dosis de 300 mg por infusión IV durante un período de administración de cuatro semanas.

Como dejan claro los ejemplos de cálculo anteriores, un paciente con un nivel de IgG4 endógeno igual o inferior a un nivel dado, como aproximadamente 200 ug/ml, aproximadamente 100 ug / ml, aproximadamente 50 ug/ml, aproximadamente 15 ug/ml, o alrededor de cero probablemente tengan un perfil clínico muy diferente con natalizumab que los pacientes con niveles normales de IgG4 endógena (por encima de aproximadamente 1 ug/ml de anticuerpo funcional vs. 0,12 ug/ml).

Estos cálculos también demuestran que el natalizumab exhibe una gran eficacia aunque las concentraciones caigan por debajo de los niveles de ocupación completa durante una o dos semanas al mes en pacientes típicos, que reciben una dosis estándar de 300 mg por infusión IV durante un período de administración de cuatro semanas. Esta observación sugiere que el tráfico celular en el SNC de pacientes típicos solo se inhibe parcialmente durante parte de cada período de administración. Sin embargo, en una minoría de pacientes, particularmente aquellos con bajos niveles de IgG4 endógena, unos niveles nadir más altos de natalizumab bivalente pueden resultar en la saturación prolongada del receptor con natalizumab, resultando en la inhibición completa de las α 4-integrinas α 4 β 1 y α 4 β 7 para el período de administración y una mayor inhibición del tráfico celular. Una consecuencia de esta condición es que esos pacientes tienen un mayor riesgo de infección grave mientras reciben tratamiento con natalizumab.

Cualquier factor que altere el nivel nadir de natalizumab total durante un intervalo de administración también afectará el nivel nadir de anticuerpo natalizumab bivalente completamente activo. Por ejemplo, en un paciente con 100 ug/ml de IgG4 endógena, si los niveles nadir de natalizumab se duplican de 10 ug/ml a 20 ug/ml, el nivel de anticuerpo bivalente se triplicará, aumentando desde 0,5 μ g/ml (por debajo de la saturación) a 1,8 μ g/ml (por encima de la saturación). Otros factores además de los niveles de IgG4 que podrían afectar el nivel de anticuerpo de natalizumab bivalente completamente activo presente durante un período de administración incluyen peso corporal, medicación concomitante y duración del tratamiento. Cuando se usa una dosis fija de natalizumab, las diferencias en el peso corporal pueden afectar los niveles de natalizumab hasta en un factor de tres, p.ej. de 3 a 9 ug/ml o de 6 a 16 ug/ml.

Aunque se sigue discutiendo el efecto de AVONEX® sobre la farmacocinética, los datos obtenidos de un pequeño subconjunto de pacientes indican que los niveles nadir de natalizumab fueron de 12 ug/ml con natalizumab solo (en línea con todos los demás estudios) frente a 25 ug/ml cuando se coadministra natalizumab con AVONEX®. Esta diferencia también podría triplicar el nivel de moléculas de natalizumab bivalente. Incluso si este efecto no es estadísticamente significativo para la población en general, si AVONEX® afecta el límite superior del rango o las concentraciones nadir de natalizumab incluso solo para un pequeño número de individuos, esto podría resultar en un cambio significativo en el perfil de riesgo en la población total de pacientes.

El natalizumab puede administrarse repetidamente, por ejemplo a intervalos de cuatro semanas. El número de dosis previas de natalizumab puede afectar los niveles nadir observados durante cada intervalo de administración posterior. Por ejemplo, los niveles de concentración parecen aumentar con la administración repetida de 5 ug/ml

antes de la dosis número dos frente a 12 ug/ml para la dosis número 15. Por lo tanto, Tysabri puede acumularse con administraciones repetidas.

Natalizumab para uso en métodos de tratamiento

5

Las composiciones farmacéuticas de natalizumab se administrarán por vía intravenosa. La dosis de natalizumab administrada y el período de administración pueden ser iguales para todos los pacientes o para una clase de pacientes, o pueden determinarse en función del peso del paciente. Por ejemplo, en una realización, el natalizumab se administra en una dosis de uno a cinco mg por kg de peso corporal mediante infusión IV. Alternativamente, se

10

puede administrar una dosis fija de natalizumab a todos los pacientes o a una clase de pacientes independientemente de su peso. Por ejemplo, en una realización, el natalizumab se administra en una dosis de 300 mg por infusión IV.

15

En una realización, la dosis, ya sea fija o dependiendo del peso, se determina o ajusta en función de la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente y/o la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente.

20

En una realización, la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente y/o la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente se determinan durante un período de administración. La cantidad de natalizumab bivalente se puede determinar directamente o se puede determinar o estimar de forma indirecta, por ejemplo midiendo la cantidad de IgG4 y/o natalizumab total en el plasma o suero del paciente y calculando o estimando la cantidad de natalizumab bivalente en base a estas medidas.

25

En una realización, la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente puede usarse para determinar una dosis adecuada y un período de administración de natalizumab, ya sea antes y/o después de la iniciación del tratamiento.

30

Si la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es inferior a 200 µg/ml, inferior a 100 ug/ml, inferior a 15 ug/ml o aún menor, como por ejemplo indetectable, la dosis de natalizumab determinada en función de la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente puede ser inferior a la dosis estándar o inferior a la dosis administrada previamente al paciente. Además, el período de administración determinado puede ser más largo que el período de administración estándar, o más que uno o más períodos de administración previamente programados. Por ejemplo, la dosis determinada puede ser menor de 300 mg por infusión IV, el período de administración establecido puede ser mayor de cuatro semanas o la dosis determinada puede ser inferior a 300 mg por infusión IV y el período de administración establecido puede ser mayor de cuatro semanas.

35

En una realización la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero de un paciente durante un primer período de administración puede usarse para determinar una segunda dosis de natalizumab para administración durante un segundo período de administración. Por ejemplo, si el control muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima de un nivel predeterminado durante el primer período de administración, la dosis corregida de natalizumab administrada durante el segundo período de administración puede diseñarse para lograr una reducción del nivel de natalizumab durante el segundo período de administración por debajo del nivel predeterminado durante al menos una parte del segundo período de administración. Esto puede lograrse, por ejemplo, determinando una segunda dosis más baja que la primera dosis, un segundo período de administración más largo que el primer período de administración, o determinando una segunda dosis más baja que la primera y un segundo período de administración más largo que el primero período de administración. Por ejemplo, el nivel predeterminado puede ser de aproximadamente 1 ug/ml, aproximadamente 0,5 ug/ml, o aproximadamente 0,1 ug/ml. La segunda dosis de natalizumab puede estar por debajo de una dosis estándar y/o el período de administración determinado puede ser más prolongado que un período de administración estándar. Por ejemplo, la dosis determinada puede ser menor de 300 mg por infusión IV, el período de administración establecido puede ser mayor de cuatro semanas o la dosis determinada puede ser inferior a 300 mg por infusión IV y el período de administración establecido puede ser mayor de cuatro semanas.

50

Ensayos ELISA para Natalizumab Total y Bivalente

55

La cantidad total de natalizumab en una solución, por ejemplo un fluido biológico tal como plasma o suero, se puede medir usando un Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzima (Enzyme-Linked Immunosorbant Assay, ELISA). La especificación divulga ensayos ELISA que miden tanto el natalizumab monovalente como el bivalente. Específicamente, proporciona ensayos ELISA tipo sándwich en fase sólida para medir la concentración de natalizumab total y la concentración de natalizumab bivalente. En general, los ensayos ELISA descritos en este documento utilizan anticuerpos anti-idiotipo específicos para natalizumab y anticuerpos ligados a enzimas a la región Fc de anticuerpos IgG4.

60

Tanto en el natalizumab total como en el ELISA de natalizumab bivalente, el anticuerpo anti-idiotipo se une a una superficie sólida. Cualquier anticuerpo anti-idiotipo específico para natalizumab es adecuado para su uso en el ELISA. El anticuerpo 12C4 es un ejemplo de un anticuerpo anti-idiotipo específico para la región variable de natalizumab y adecuado para su uso en el ensayo. Las superficies sólidas adecuadas son bien conocidas en la técnica e incluyen placas de microtitulación.

En el ensayo ELISA para el natalizumab total, el anticuerpo anti-idiotipo se une a la superficie a alta densidad. En una realización, 12C4 está unido a una densidad de aproximadamente 2 ug/ml. Se agrega una solución fluida que comprende una cantidad desconocida de natalizumab y se le permite interactuar con el anticuerpo anti-idiotipo unido a la superficie en condiciones suficientes para que el natalizumab en la solución se una al anticuerpo anti-idiotipo. La porción libre de la solución se elimina lavando la superficie. El natalizumab que se une al anticuerpo anti-idiotipo se detecta luego usando un anticuerpo que es específico para la región Fc de los anticuerpos IgG4 y se conjuga, directa o indirectamente, a una enzima. La superficie se lava de nuevo para eliminar la IgG4 conjugada con enzima sin unir. Se agrega un sustrato para la enzima y se mide el producto de reacción. La cantidad de producto de reacción se correlaciona con la cantidad de natalizumab en solución. Se conocen en la técnica enzimas, sustratos y dispositivos de medición adecuados. En una realización, se usa un anticuerpo comercialmente disponible para IgG4 conjugado a fosfatasa alcalina para detectar natalizumab unido.

La cantidad de natalizumab bivalente también puede medirse mediante ELISA tipo sándwich en fase sólida usando los métodos que se proporcionan en este documento. Un anticuerpo anti-idiotipo se une a una superficie sólida a baja densidad. En una realización, 12C4 está unido a la superficie a una densidad de aproximadamente 0,3 ug/ml. Se permite que una solución que comprende una cantidad desconocida de natalizumab interactúe como se describió anteriormente para el ELISA de natalizumab total. El natalizumab se detecta posteriormente con un anticuerpo anti-idiotipo específico para el natalizumab bivalente, que no reconoce ni los monómeros de natalizumab en solución ni los monómeros de natalizumab que han intercambiado una cadena pesada de IgG4 con IgG4 endógena y permanecen unidos a la IgG4 endógena. El anticuerpo anti-idiotipo utilizado en el paso de detección se conjuga con una enzima detectable. El anticuerpo anti-idiotipo 12C4 es adecuado para su uso en el ensayo de natalizumab bivalente como anticuerpo unido a la fase sólida y/o como anticuerpo detector. Cuando se usa como el anticuerpo de detección, 12C4 se conjuga con una enzima detectable.

En la técnica se conoce una amplia variedad de sistemas de detección de enzimas. Incluyen conjugados de fosfatasa alcalina, conjugados de avidina y estreptavidina, conjugados de peroxidasa de rábano, conjugados de beta-galactosidasa y similares. Una amplia variedad de sustratos también es bien conocida en la técnica e incluyen 4-nitrofenilfosfato, 2-nitrofenil-b-D-galactopiranosido, 2,2'-azino-di-[3-etilbenzotiazolina-sulfonato].

La concentración de natalizumab total y bivalente en el suero de monos tratados con natalizumab se determinó usando los ensayos ELISA de la divulgación. El natalizumab se midió 4, 24 y 72 horas después de la administración con 3 mg/kg. Los resultados de las mediciones de 4 horas y 24 horas se muestran en la tabla 1. El acrónimo "blq" se utiliza para indicar que el resultado estuvo por debajo del límite de cuantificación. Como control positivo se utilizó suero enriquecido con 10 ug/ml de natalizumab.

Tabla 1: Niveles de Natalizumab total y bivalente

Animal	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3
	4 h		24 h		
	Nat. Total	Nat. Bivalente	Nat. Total	Nat. Bivalente	Nat. Bivalente
1	56,1	37,3	17,4	48,3	16,7
2	53,0	32,6	14,1	1,0	0,5
3			21,1	47,0	16,9
4	66,8	31,0	10,8	0,3	1,8
5	65,4	38,0	19,8	41,7	15,2
6			8,9	0,5	0,3
7	54,6	30,0	7,3	blq	0,2
8	53,0	27,8	9,6	blq	0,2
9			17,3	14,2	5,4
10	54,1	37,4	12,9	29,0	6,1
11	57,4	28,5	10,1	0,4-3	0,2
12			18,7	35,2	18,7

Seguridad de natalizumab

La seguridad de natalizumab se demuestra en este documento, en base a los resultados del tratamiento de 3.919 sujetos con natalizumab en ensayos clínicos para la EM, la enfermedad de Crohn y la artritis reumatoide, lo que resulta en 5505 pacientes-años de exposición a natalizumab. El tratamiento con natalizumab fue generalmente bien tolerado. Dieciocho muertes emergentes de tratamiento ocurrieron en todo el programa de natalizumab. Los eventos adversos encontrados en los ensayos, tanto comunes como graves, fueron similares en pacientes y controles tratados con natalizumab. Los eventos adversos que llevaron a la interrupción del natalizumab ocurrieron en 5,8% de los pacientes con EM tratados con natalizumab y en 4,8% de los pacientes con EM tratados con placebo, siendo la urticaria la causa más común de interrupción en los pacientes tratados con natalizumab (1,2%).

Al igual que otros medicamentos altamente activos utilizados para tratar enfermedades autoinmunes, natalizumab no está libre de riesgos. Desafortunadamente, la eficacia clínica de los agentes inmunomoduladores como el natalizumab representa un riesgo de efectos secundarios significativos basados en el mecanismo. Los riesgos de los medicamentos que modulan la función inmune para tratar enfermedades crónicas graves han sido bien documentados en los últimos años. Los medicamentos como los antagonistas de TNF α (por ejemplo, infliximab, adalimumab y etanercept) son potentes moduladores de la función inmune y están aprobados para numerosas enfermedades autoinmunes graves, como la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, la psoriasis, la artritis psoriásica y la espondilitis anquilosante. Aunque son muy efectivos, estos agentes se asocian con reacciones adversas graves, en particular infecciones que se han asociado con una morbilidad y mortalidad significativas.

La invención proporciona la identificación, a través de análisis de seguridad detallados, de LMP como un riesgo raro, pero significativo, de tratamiento con natalizumab. Además, se han observado infecciones oportunistas graves que no son de LMP en pacientes tratados con natalizumab, principalmente en pacientes con enfermedad de Crohn en asociación con el uso simultáneo de inmunosupresores u otras comorbilidades importantes. Además, hemos identificado poblaciones de pacientes en las que el perfil beneficio-riesgo está peor definido. La aparición de estas infecciones pone de manifiesto la necesidad de un programa integral de gestión de riesgos en el entorno posterior a la comercialización, centrado en las condiciones de uso apropiadas y la evaluación y minimización del riesgo de LMP y otras infecciones oportunistas graves.

30 **Muertes**

De las dieciocho muertes que ocurrieron durante los ensayos clínicos, cinco ocurrieron en los ensayos de EM controlados con placebo, incluidos dos en pacientes que habían recibido natalizumab y tres en los que habían recibido placebo). Los pacientes que recibieron natalizumab murieron de intoxicación alcohólica y melanoma maligno metastásico. Los pacientes que recibieron placebo murieron de paro cardíaco, paro respiratorio y carcinomatosis pleural con convulsiones. Ocurrieron cuatro muertes en los ensayos abiertos de EM, debido a dificultad respiratoria, LMP, suicidio y convulsiones debido a EM.

Se observaron seis muertes de pacientes con enfermedad de Crohn tratados con natalizumab en los ensayos. La exposición al natalizumab fue aproximadamente tres veces mayor en estos ensayos que la exposición al placebo. Las causas de muerte fueron: infarto agudo de miocardio, insuficiencia renal aguda, asfixia por dióxido de carbono, LMP, *neumocistitis carinii* neumonía y aspergilosis broncopulmonar.

Ocurrieron tres muertes en los ensayos de artritis reumatoide, dos en pacientes tratados con natalizumab y uno en un paciente tratado con un placebo. Los pacientes tratados con natalizumab murieron de hemoptisis con insuficiencia respiratoria y enfermedad pulmonar reumatoide en etapa terminal. El paciente tratado con placebo murió de insuficiencia circulatoria y respiratoria.

En los estudios de EM, además de la LMP, no se observó ninguna otra señal de seguridad en las muertes ocurridas en el estudio. En los estudios de la enfermedad de Crohn, un paciente murió de LMP. Dos muertes adicionales en la enfermedad de Crohn se asociaron con infecciones oportunistas, en concreto aspergilosis broncopulmonar y *neumocistitis carinii* neumonía. Estos pacientes tenían comorbilidades significativas, lo que puede haber contribuido al desarrollo de estas infecciones.

55 **Reacciones adversas**

Al menos una reacción adversa fue sufrida por 251 de los 1617 pacientes con EM tratados con natalizumab (15,5%) y por 214 de los 1135 pacientes tratados con placebo (18,9%) en el ensayo controlado con placebo. Las reacciones adversas más comunes, clasificado por sistemas de órganos, fueron trastornos del sistema nervioso (5,9% para natalizumab, 10,2% para placebo). La recaída de EM contribuyó significativamente a esta incidencia (4,7% para

natalizumab, 9,0% para placebo). Las segundas reacciones adversas más comunes fueron infecciones e infestaciones (2,4% para natalizumab, 2,2% para placebo), de las que apendicitis e infección del tracto urinario (< 1% en ambos grupos) fueron las más comunes.

5 La incidencia de reacciones de hipersensibilidad, un evento que se espera que resulte del tratamiento con proteínas terapéuticas, fue de aproximadamente 4%, con reacciones sistémicas graves incidencia de menos de 1%. Las reacciones tendieron a ocurrir poco después de iniciar el tratamiento, pero se observaron durante todo el tiempo de infusión. Aunque los mecanismos específicos de las reacciones no se han determinado clínicamente, las reacciones parecían ser reacciones típicas de hipersensibilidad de tipo inmediato mediadas por IgE o IgG. Todos los pacientes
10 se recuperaron sin secuelas.

La aparición de malignidad durante el tratamiento con natalizumab fue poco frecuente. La incidencia de malignidad fue equilibrada entre el natalizumab y los grupos de control. Las tasas de malignidad observadas durante el tratamiento con natalizumab estuvieron dentro de las tasas esperadas por comparación con los registros de cáncer
15 existentes, como la Epidemiología de Vigilancia y los Resultados Finales del Instituto Nacional del Cáncer.

Evaluación de los casos de LMP

Se identificaron tres casos confirmados de LMP, dos de los cuales resultaron fatales. Dos casos ocurrieron en
20 pacientes con EM y uno en un paciente con enfermedad de Crohn. Ambos pacientes de EM recibieron natalizumab durante más de dos años además de AVONEX®. El paciente con enfermedad de Crohn recibió ocho dosis de natalizumab durante un período de 18 meses y estaba inmunocomprometido por el uso crónico de azatioprina, que se manifestó por la linfopenia persistente. Los tres pacientes con LMP presentaron cambios clínicos sutiles al principio de su curso de enfermedad que fueron notados por los pacientes o sus familias.

25 El primer paciente en contraer un caso fatal de LMP fue una mujer de 46 años con EM que presentó a su neurólogo con parestesias y disestesia del lado derecho y torpeza de la extremidad superior derecha. El escáner cerebral por resonancia mostró cuatro lesiones hiperintensas T2 no intensificadas bilateralmente en la corona radiata. Seis semanas después, presentó una nueva visión borrosa con el ojo derecho. La agudeza visual era de 20/15 en el ojo izquierdo y 20/100 en el derecho. El análisis del líquido cefalorraquídeo mostró un glóbulo blanco, proteína y glucosa normales, y no bandas oligoclonales. Un examen de seguimiento por resonancia magnética del cerebro reveló dos nuevas lesiones subcorticales en la región parietal derecha que eran hiperintensas en las imágenes FLAIR e hipointensas en T1.
30

35 Se inició tratamiento con AVONEX®, pero posteriormente sufrió tres recaídas, la más reciente de las cuales consistió en dolor en bandas alrededor del abdomen, debilidad en las extremidades inferiores y espasticidad que requería tratamiento con metilprednisolona. Su puntaje de Escala de Estado de Discapacidad Ampliada (EDSS) antes de la entrada en el estudio de EM controlado con placebo, como se describe con más detalle a continuación, era de 2,5. Recibió 30 infusiones de natalizumab antes de ingresar en la extensión abierta del estudio, recibiendo
40 siete infusiones adicionales. No tuvo exacerbaciones ni sospecha de recaídas durante su tiempo en el estudio controlado con placebo. Desarrolló cinco lesiones hiperintensas T2 nuevas o en aumento durante el primer año del estudio controlado con placebo y una durante el segundo año. Resultó negativa para los anticuerpos anti-natalizumab y su concentración sérica de natalizumab fue similar a la media de las poblaciones estudiadas a lo largo de su participación.

45 En noviembre de 2004, comenzó a experimentar disfunción motora y dificultades cognitivas y del lenguaje, que progresaron a la hemiparesia derecha el mes siguiente. Un escáner cerebral por resonancia magnética en diciembre de 2004 reveló hiperintensidad T2 frontal izquierda e hipointensidad T1 con extensión al centro semioval y corona radiata sin realce de Gd. Recibió dos ciclos de esteroides en dosis altas durante los siguientes meses, pero siguió
50 empeorando. Recibió la última dosis de natalizumab el 18 de enero de 2005. Fue ingresada de nuevo el 12 de febrero de 2005 con un empeoramiento de su estado clínico. Una nueva resonancia magnética cerebral realizada en febrero de 2005 mostró una extensión de la lesión observada anteriormente. Un extenso análisis durante la semana siguiente reveló ADN viral de JC en el LCR, lo que resultó en el diagnóstico de LMP. Falleció el 24 de febrero de 2005. El examen *post mortem* reveló órganos normales sin evidencia de infección oportunista. El examen cerebral
55 reveló una cavitación intensa y extensa principalmente en el hemisferio izquierdo, así como múltiples áreas ovoides no cavitadas a lo largo de la sustancia blanca de ambos hemisferios típicos de la LMP, con astrocitos reactivos con núcleos hiper cromáticos agrandados (Kleinschmidt-DeMasters and Tyler, N. Engl. J. Med. 353:369-374 (2005)).

El segundo paciente es un varón de 46 años que experimentó sus primeros síntomas de EM recidivante/remitente
60 en 1983. Su historial médico pasado es significativo para el zóster auricular, el síndrome de Ramsay-Hunt y

melanoma. Su historia familiar es notable por una hermana con EM. Había sido tratado con AVONEX® desde 1998, y experimentó tres recaídas el año antes de inscribirse en el estudio de EM controlado con placebo, durante el cual no experimentó recaídas ni evidencia de progresión. Fue negativo para anticuerpos anti-natalizumab y su concentración sérica de natalizumab fue similar a la media de las poblaciones estudiadas a lo largo de su participación.

En octubre de 2004, una resonancia magnética mostró una pequeña lesión periventricular con realce de Gd en la derecha y una pequeña lesión frontal derecha, subcortical, no intensificada, T2-hiperintensa. En noviembre de 2004 exhibió cambios de comportamiento seguidos de hemiparesia y deterioro cognitivo. Su última dosis de natalizumab fue en diciembre de 2004. En febrero de 2005, a pesar del tratamiento con dosis altas de metilprednisolona por vía intravenosa, su estado continuó deteriorándose. Una resonancia magnética del cerebro en febrero de 2005 demostró la extensión de la lesión previamente identificada. Se sometió a un exhaustivo análisis completo, que incluyó análisis de LCR y biopsia cerebral, dando como resultado el diagnóstico de LMP. El tratamiento con Cidofovir se inició sin efecto clínico. La carga viral de JC disminuyó en su plasma y LCR en los siguientes meses. Esto correspondía a un mayor deterioro en su curso clínico y al desarrollo de lesiones realzadoras de Gd en la RM, en consonancia con el Síndrome Inflamatorio de Reconstitución Inmune. Continuó recibiendo tratamiento con cidofovir y se agregó citarabina. Aproximadamente 3 meses después de la interrupción del natalizumab, comenzó a mejorar. Es capaz de conversar y puede mantener conversaciones de alto nivel sobre su medicación y tratamiento, pero tiene un deterioro cognitivo residual significativo con hemiparesia izquierda y ataxia (Langer-Gould et al., N. Eng. J. Med. 353:375-381(2005)).

El paciente final era un varón de 60 años con una historia de enfermedad de Crohn desde hacía 28 años. En el transcurso de su enfermedad había sido tratado con azatioprina, budesonida oral, corticosteroides y cuatro dosis de infliximab. Mostró signos preexistentes de hematopoyesis alterada, predominantemente linfopenia y anemia, desde 1996 y recibió azatioprina a partir de 1999. Fue inscrito en un estudio de fase 3 de natalizumab en pacientes con enfermedad de Crohn activa en marzo de 2002 y recibió tres dosis concomitantemente con azatioprina antes de ser aleatorizado para recibir placebo en un estudio de mantenimiento de fase 3. Se mantuvo con azatioprina y placebo hasta noviembre de 2002, cuando se suspendió la azatioprina debido a pancitopenia refractaria. En febrero de 2003 comenzó a recibir tratamiento abierto con natalizumab. Fue negativo para anticuerpos anti-natalizumab y su concentración sérica de natalizumab fue similar a la media de las poblaciones estudiadas a lo largo de su participación.

En julio de 2003, un mes después de su quinta dosis de natalizumab, presentó una historia de deterioro cognitivo de una semana. Una resonancia magnética del cerebro demostró una gran lesión hiperintensa en T2 en el lóbulo frontal derecho, y lesiones hiperintensas adicionales en los lóbulos frontales y temporales izquierdos que no se realzaron con gadolinio. Se sometió a una resección parcial de la lesión, cuya patología se interpretó en ese momento como un astrocitoma anaplásico, OMS Grado III. Fue tratado con corticosteroides y anticonvulsivos, pero estaba demasiado enfermo para la radioterapia. La resonancia magnética de seguimiento seis semanas después de la cirugía mostró la extensión del tumor. Se deterioró clínicamente y murió en diciembre de 2003. El caso fue reportado por el médico tratante como un astrocitoma maligno, basado en el informe final de la patología. En febrero, y como resultado del único caso confirmado y uno sospechoso de LMP descrito anteriormente, se revaluó su caso y se determinó que era LMP después de la consulta con dos neuropatólogos independientes con experiencia en LMP (Van Assche et al., N. Engl. J. Med. 353:362-368 (2005)).

Los pacientes del ensayo clínico expuestos al natalizumab se evaluaron sistemáticamente en busca de evidencia de LMP incipiente o cualquier otra infección oportunista. Se evaluó a los que tenían algún deterioro neurológico activo para el que no se podía excluir LMP como diagnóstico, mostraban anomalías en la RM para las que no se podía descartar LMP, o tenían LCR con títulos de ADN de VJC detectables.

Se establecieron criterios prospectivamente para la evidencia neuroradiológica y los ensayos de laboratorio para el diagnóstico de LMP. El diagnóstico de "LMP confirmada" se definió por la presencia de enfermedad clínica progresiva, signos de RM típicos de LMP, detección de ADN de VJC en LCR o confirmación patológica. La evidencia suficiente para excluir LMP se definió como la falta de enfermedad neurológica progresiva, lesiones en resonancia magnética no típicas de LMP o estables en el tiempo, o ADN de VJC no detectable en el LCR si la RM era sospechosa. Se consideró que un caso era "indeterminado" si existía sospecha clínica o resonancia magnética de LMP y no se pudieron obtener los datos de seguimiento clínico, de resonancia magnética o LCR.

Se notificó a un total de 3.826 participantes elegibles del estudio (2.248 pacientes con EM y 1.578 pacientes con enfermedad de Crohn / artritis reumatoide) que informaran a su médico tratante/investigadores para una evaluación. Se solicitó a los investigadores que realizaran el procedimiento de evaluación, incluidos los antecedentes médicos,

el examen neurológico, la resonancia magnética cerebral y la recolección de LCR. También se tomaron muestras de sangre para el análisis por PCR del ADN de VJC como exploración complementaria. Las imágenes de resonancia magnética fueron evaluadas por los centros de lectores centrales con experiencia en trastornos neurológicos, incluidos los dos centros de lectores centrales para los estudios originales de fase 3 de EM. Se desarrolló una guía de consenso de manera prospectiva para estandarizar criterios para ayudar a distinguir las anomalías de la materia blanca de la EM de las de la LMP.

En total, 3389 (89%) pacientes del estudio con EM, enfermedad de Crohn o artritis reumatoide fueron evaluados por su médico tratante, 3116 de los cuales habían recibido natalizumab. Los 273 pacientes restantes habían recibido placebo como parte de un ensayo clínico y se incluyeron como grupo control. De los 437 que no se evaluaron, 60 (22 pacientes con EM, 38 pacientes con enfermedad de Crohn/artritis reumatoide) se perdieron durante el seguimiento. Entre los 3389 pacientes que participaron, 2046 eran pacientes del estudio de EM, más del 97% de los cuales fueron atendidos dentro de los tres meses de su última dosis de natalizumab. Seis pacientes con EM fueron referidos para una evaluación adicional. De estos pacientes de ensayos clínicos, cinco fueron referidos por empeoramiento neurológico y uno debido a posible LMP según los hallazgos de la RM. La resonancia magnética descartó de manera efectiva el diagnóstico de LMP en los cinco pacientes remitidos por motivos clínicos. Análisis por RM y de LCR subsiguientes excluyeron LMP en el caso referido debido a hallazgos de RM.

De los 1349 pacientes con enfermedad de Crohn / artritis reumatoide que participaron en la evaluación de seguridad, el 21% se presentaron en los tres meses posteriores a su última dosis, 91% en seis meses. Se evaluaron 35 pacientes, uno debido a síntomas clínicos o neurológicos, 32 basados en cambios sospechosos en la RM, uno debido a un alto número de copias de VJC en plasma y uno debido a la incapacidad de realizar una resonancia magnética en un paciente con un examen neurológico normal. La tasa más alta de examen de la enfermedad de Crohn en comparación con la EM fue impulsada principalmente por la falta de imágenes de resonancia magnética de referencia para la población de la enfermedad de Crohn. Se consideró que la mayoría de los casos no eran de LMP en vista del examen neurológico, la resonancia magnética y, de estar disponibles, las pruebas de LCR. Para los diez casos en los que persistía la preocupación, se realizaron evaluaciones de RM repetidas y se diagnosticaron como "no LMP" en función de la falta de progresión clínica, la falta de progresión de la RM durante los dos meses posteriores a la RM inicial que condujo a la evaluación y en algunos casos, resultados de las pruebas LCR.

Las imágenes por RM cerebrales con y sin realzamiento de Gd y una secuencia FLAIR a veces fueron una herramienta útil para excluir un diagnóstico de LMP en los casos de EM. La existencia de exploraciones de resonancia magnética previas al tratamiento y en el tratamiento aumentó la especificidad y ayudó a la interpretación de las exploraciones de resonancia magnética de seguimiento obtenidas en diferentes momentos, especialmente en situaciones en las que la condición neurológica del paciente empeoraba. Durante el proceso de evaluación de seguridad, se requirió una comparación con la exploración previa en aproximadamente el 35% de los casos de EM debido a la presencia de lesiones para las cuales la LMP no podía excluirse definitivamente. Después de la comparación con una exploración previa, el neurorradiólogo pudo excluir la LMP en más del 99% de los casos de EM.

El LCR estaba disponible para la prueba en 396 pacientes que habían sido tratados por EM o enfermedad de Crohn con natalizumab. No se detectó VJC en ninguno de estos casos, incluidos 19 pacientes evaluados según criterios clínicos o de resonancia magnética. Las muestras de 411 pacientes con EM y otros trastornos neurológicos sirvieron como LCR y controles de plasma y se evaluaron en colaboración con el Instituto Karolinska y los Institutos Nacionales de Salud (Yousry et al., N. Engl. J. Med. con publicación prevista el 2 de marzo de 2006). No se encontró VJC detectable en estas muestras de LCR, lo que confirma la especificidad del ensayo de LCR para solo los casos activos de LMP. Cada uno de los tres pacientes con LMP confirmada tenía ADN de VJC detectable. Un estudio previo había indicado que el VJC se encontraba en el 11% de las muestras biológicas de los 121 pacientes con EM sometidos a prueba (Ferrante et al., Multiple Sclerosis 4:49-54 (1998)).

El plasma se analizó para detectar la presencia de ADN de VJC como medida exploratoria. La población total del estudio que dio su consentimiento (2370 pacientes) se evaluó mediante un sistema automatizado de alto rendimiento de extracción de ADN y análisis de PCR. Además, se evaluó un subconjunto aleatorio de muestras utilizando un método manual de bajo rendimiento. Aunque el método manual demostró ser un orden de magnitud más sensible que el sistema de alto rendimiento, dadas las técnicas involucradas, las pruebas con este método solo fueron posibles en aproximadamente el 10% de la población general (209 pacientes). De los 2370 pacientes de la evaluación de seguridad que fueron evaluados para viremia de JC, solo cinco pacientes (0,2%) tenían ADN de VJC detectable, tres de los cuales nunca habían recibido natalizumab. Además, el ADN de VJC no se detectó en ninguna de las 411 muestras de pacientes con EM sin tratamiento previo y pacientes con otras enfermedades neurológicas. Estos resultados se confirmaron utilizando el método de extracción manual. Además, del subconjunto aleatorio de

209 pacientes evaluados por el método manual, cinco muestras más (2,4%) tenían ADN de VJC detectable. Ninguno de los pacientes con ADN de VJC detectable en su plasma por ninguno de los métodos tenía características clínicas o hallazgos en la RM que sugirieran LMP.

- 5 Estaban disponibles muestras de suero de los tres pacientes con LMP confirmada obtenidas antes y después del diagnóstico. Solo un paciente, el paciente con enfermedad de Crohn, tenía ADN de VJC detectable en el suero antes del inicio de sus síntomas. Los otros dos pacientes no tenían ADN de VJC detectable a pesar de tener síntomas clínicos para la enfermedad y manifestar cambios en una exploración de RM cerebral. Las observaciones en estos grupos de pacientes son consistentes con los datos de la literatura que demuestran que la mera presencia de ADN
10 de VJC en plasma no es predictiva ni diagnóstica de LMP.

En resumen, la evaluación integral de seguridad realizada después de la identificación de LMP en pacientes tratados con natalizumab no reveló casos adicionales confirmados de LMP en los más de 3000 pacientes examinados. Casi todos los pacientes que habían recibido natalizumab en estudios recientes de EM, enfermedad de Crohn y artritis
15 reumatoide se tuvieron en cuenta durante las evaluaciones, por lo que es poco probable que se escaparan casos de LMP sin detectar. La aparición de LMP se limitó a dos casos de EM y un caso de enfermedad de Crohn, como se describió originalmente. La incidencia de LMP en sujetos tratados con natalizumab en ensayos clínicos de EM y Enfermedad de Crohn es, por lo tanto, aproximadamente 1/1000 con un intervalo de confianza del 95% que varía de 0,2 a 2,8/1000. Las pruebas de plasma no demostraron ser ni predictivas ni diagnósticas de LMP, de acuerdo con la
20 literatura publicada (Kitamura et al., J. Infect. Dis. 161:1128-1133 (1990); Tornatore et al., Ann. Neurol. 31:454-462 (1992); Dorries et al., Virology 198:59-70 (1994); Agostini et al., J. Clin. Microbiol. 34:159-164 (1996); Dubois et al., AIDS 10:353-358 (1996); Knowles et al., J. Med. Virol. 59:474-479 (1999); Dorries et al., J. Neurovirol. 9 (Suppl 1):81-87 (2003)). Se observaron anomalías clínicas y de RM en dos de los tres pacientes con LMP antes de que se detectara el ADN de VJC en el plasma. Además, se detectó ADN de VJC en plasma en varios sujetos del estudio
25 que no presentaban signos clínicos o radiográficos de LMP, incluidos tres que nunca habían recibido natalizumab. Estos resultados sugieren que establecer un nivel estático de VJC en plasma no es útil para predecir la probabilidad de LMP en pacientes asintomáticos. Los médicos y los pacientes deben permanecer atentos a los signos y síntomas de la LMP y tener un umbral bajo para suspender el tratamiento e iniciar un diagnóstico apropiado (RM, análisis de LCR) en los pacientes tratados con natalizumab que presentan un nuevo deterioro neurológico.

30

Consecuencias de suspender el tratamiento

Las consecuencias de suspender el tratamiento con natalizumab se evaluaron cuidadosamente en un estudio de fase 2, que incluyó a 213 pacientes aleatorizados para recibir seis infusiones mensuales de placebo, 3 mg/kg de
35 natalizumab o 6 mg/kg de natalizumab. Los pacientes fueron seguidos durante siete meses después de la última infusión. Durante ese tiempo, se registraron recaídas y otros eventos adversos, y las imágenes por resonancia magnética se realizaron cuatro meses y siete meses después de la última dosis de natalizumab. Se hicieron comparaciones entre el grupo placebo y los dos grupos de administración de natalizumab. Como era de esperar, la proporción de pacientes que experimentaron recaídas, así como la frecuencia de recaídas, aumentaron en el grupo
40 de natalizumab a niveles comparables a los del grupo placebo después del cese del fármaco del estudio. Además, hubo un aumento gradual en la proporción de exploraciones de RM activas en el grupo de natalizumab hasta niveles comparables a los del grupo de placebo después del cese de la terapia. Por lo tanto, el cese del tratamiento con natalizumab resultó en pérdida de eficacia, pero no hubo evidencia de un aumento en la actividad de la enfermedad más allá de lo que se hubiera esperado si no hubiera habido tratamiento con natalizumab, es decir, no se observó
45 efecto rebote. Por lo tanto, los pacientes con EM que interrumpen la terapia con natalizumab no tienen un mayor riesgo de un aumento marcado en la actividad de la enfermedad.

Interacciones de los medicamentos

50 En un estudio de EM controlado con placebo, la administración de AVONEX® pareció estar asociada con un aumento en las concentraciones séricas de natalizumab en una pequeña cohorte en la que se realizó un muestreo farmacocinético intensivo. Sin embargo, en base a una comparación de las estimaciones medias de parámetros post-hoc del análisis farmacocinético poblacional, los valores de aclaramiento de estado estable y vida media difirieron entre pacientes que tomaban simultáneamente AVONEX® y natalizumab en monoterapia, pero solo por
55 aproximadamente 5%, y no fueron considerados clínicamente significativos. Además, el natalizumab fue bien tolerado cuando se administró a 589 pacientes en combinación con AVONEX® hasta 120 semanas. Se debe indicar que los dos informes de LMP en la base de datos de EM ocurrieron en pacientes que recibieron concomitantemente AVONEX®. Por lo tanto, el riesgo de LMP con el tratamiento con natalizumab puede aumentar debido al tratamiento concomitante con interferón β , aunque esto podría haber ocurrido en dos pacientes en terapia combinada debido a
60 la casualidad ($p = 0,23$).

La seguridad de natalizumab en combinación con acetato de glatirámero se evaluó administrando natalizumab durante seis meses a pacientes que continuaron recibiendo 20 mg de acetato de glatirámero diario. No hubo interacciones entre la farmacocinética de acetato de glatirámero y natalizumab o su saturación del receptor de integrina $\alpha 4$. Sin embargo, este estudio fue de tamaño o duración insuficiente para establecer la seguridad o eficacia a largo plazo en esta población.

Eficacia de natalizumab

10 Esclerosis Múltiple

La EM es una enfermedad crónica del cerebro y la médula espinal. En zonas templadas como los Estados Unidos, la incidencia de EM es aproximadamente de 1 a 5/100.000 por año (Sociedad Nacional de EM de EE. UU., NMSS), con una prevalencia en los Estados Unidos estimada en 350.000 a 400.000. Es una enfermedad de adultos jóvenes, principalmente mujeres, y el inicio de la enfermedad generalmente ocurre entre los 20 y los 40 años. Las primeras manifestaciones clínicas de la EM generalmente toman la forma de un síndrome clínicamente aislado que afecta el nervio óptico (neuritis óptica), la médula espinal (mielitis transversa) o el tallo cerebral / cerebelo (Runmarker and Anderson, Brain 116:117-134 (1993)). Las estimaciones del número de pacientes que eventualmente desarrollan EM varían ampliamente, pero, en el caso de la neuritis óptica, la presencia de lesiones similares a la EM en la RM en el momento del brote indica una probabilidad superior al 80% de desarrollar clínicamente definitiva EM dentro de 10 años (O'Riordan et al., Brain 121:495-503 (1998); Sailer et al., Neurology 52:599-606 (1999)).

Se considera que la desmielinización y la transección de fibras nerviosas se producen cuando los linfocitos T activados cruzan la barrera hematoencefálica e inician una serie de eventos que conducen a la activación de células endoteliales, el reclutamiento de linfocitos y monocitos adicionales y la liberación de citoquinas proinflamatorias. Las lesiones de la EM suelen consistir en células inmunitarias, axones desmielinizados, oligodendrocitos que intentan remielinización, proliferación de astrocitos y diversos grados de transección axonal. Las citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el interferón gamma (IFN- γ) interactúan con las células inmunes, amplificando este proceso. El evento iniciador de la cascada inflamatoria es desconocido; sin embargo, la adhesión y la migración trans-endotelial de las células inflamatorias del torrente sanguíneo a través de la barrera hematoencefálica y hacia el sistema nervioso central (SNC) se considera un paso temprano y crítico en este proceso.

Los datos emergentes demuestran que la pérdida axonal irreversible ocurre temprano en el curso de la EM. Debido a que los axones transeccionales no se regeneran en el SNC, es de vital importancia el tratamiento temprano eficaz dirigido a suprimir la formación de lesiones de la EM. Desde el inicio de la enfermedad los axones se seccionan transversalmente en lesiones con inflamación activa (Trapp et al., N. Engl. J. Med. 338:278-285 (1998); Bjartmar and Trapp, Curr. Opin. Neurol. 14:271-278 (2001); Ferguson et al., Brain 120 (Pt 3):393-399 (1997)). El grado de desmielinización está relacionado con el grado de inflamación y la exposición de los axones desmielinizados al entorno inflamatorio, así como a los mediadores no inflamatorios (Trapp et al., N. Engl. J. Med.; 338:278-285 (1998); Kornek et al., Am. J. Pathol. 157:267-276 (2000); Bitsch et al., Brain 123:1174-1183 (2000)). También hay destrucción de oligodendrocitos con remielinización alterada en lesiones desmielinizantes (Peterson et al., J. Neurology 245:103-110 (2000); Chang et al., J. Neurovirol. 8:447-451 (2002)). La pérdida de oligodendrocitos conduce a una reducción en la capacidad de remielinización y puede resultar en la pérdida de factores tróficos que soportan neuronas y axones (Bjartmar et al., J. Neurocytol. 28:383-395 (1999)).

Las lesiones inflamatorias típicas de la EM pueden ocurrir en todo el SNC, pero ciertos sitios parecen particularmente vulnerables, como el nervio óptico, el tronco del encéfalo, la médula espinal y las regiones periventriculares del cerebro. La pérdida resultante de mielina y fibras nerviosas en estas áreas es lo que conduce a problemas de conducción neuronal y síntomas tales como debilidad, pérdida sensorial, pérdida visual, visión doble y desequilibrio. En la EM remitente recidivante, estos episodios de desmielinización suelen dar lugar a varias semanas de disfunción neurológica seguida de una recuperación parcial o total. Sin embargo, los ataques más severos pueden causar déficits permanentes. Los ataques recurrentes conducen a la larga a una acumulación de discapacidad física y deterioro cognitivo.

Para evaluar la eficacia de un producto en el tratamiento de la EM se pueden usar varias medidas, incluidas las medidas clínicas, las basadas en imágenes de resonancia magnética y las basadas en la calidad de vida. La Escala de Estado de Discapacidad Expandida (EDSS) es una herramienta ampliamente utilizada para rastrear el curso de la discapacidad en la EM. Clasifica los deterioros neurológicos asociados a la EM más comunes en niveles de discapacidad que van de 0 a 10; donde cada paso sucesivo describe un empeoramiento de la enfermedad. En el rango inferior de la escala EDSS, la progresión de la enfermedad se define principalmente por el aumento de los

niveles de discapacidad en los sistemas funcionales específicos medidos durante el examen neurológico. Las puntuaciones de 1,0 a 3,5 describen discapacidad leve a moderada en los sistemas funcionales. Las puntuaciones más altas, de 4,0 y más, indican una discapacidad cada vez más grave que afecta la ambulación, incluida la necesidad de dispositivos de asistencia como un bastón (EDSS de 6,0), un andador (EDSS de 6,5) o una silla de ruedas (EDSS de 7,0). Las puntuaciones superiores a 7,0 clasifican a los pacientes confinados a la cama.

El EM Funcional Compuesto (MSFC) (Whitaker et al., *Multiple Sclerosis* 1:37-47 (1995)) también se emplea para valorar la eficacia. A diferencia de las medidas de resultado clínico tradicionales de EM que se derivan del examen neurológico estándar, el MSFC se basa en pruebas cuantitativas de la función de la pierna / deambulaci3n (paseo cronometrado de 25 pies), la funci3n del brazo (la prueba de clavijas de nueve agujeros) y la funci3n cognitiva (la Prueba de Adici3n Seriada Auditiva Estimulada (PASAT 3)) que amplía las mediciones de la EDSS y evalúa los efectos en dimensiones clínicas que no est3n bien captadas por esta escala.

La resonancia magnética es otra herramienta empleada para evaluar la eficacia en el tratamiento de la EM y se puede usar sola o para respaldar los datos clínicos para evaluar los efectos terapéuticos en las variables de recaída y discapacidad. La resonancia magnética es una herramienta sensible para controlar la actividad de la enfermedad, detectando aproximadamente de cinco a diez veces más actividad de la enfermedad tanto en la EM remitente recidivante como en los pacientes con EM secundaria progresiva de lo que es clínicamente evidente (Isaac et al., *Neurology* 38:1511-1515 (1988); Willoughby et al., *Ann. Neurol.* 25:43-44 (1989); Khoury et al., *Neurology* 44:2120-2124 (1994); Thompson et al., *Ann. Neurol.* 9:53-62 (1991); Thompson et al., *Neurology* 42:60-63 (1992)). Las secuencias ponderadas en T2 en pacientes con EM detectan nuevas áreas de desmielinizaci3n aguda, así como también áreas más crónicas de desmielinizaci3n y gliosis. Por esta raz3n, la RM ponderada en T2 es una buena técnica para controlar la acumulaci3n de lesiones a lo largo del tiempo, ya sea como un recuento de lesiones activas o un cambio en el volumen total de dichas lesiones.

La infusi3n de gadolinio-ácido dietilentriaminopentaacético (Gd-DPTA) durante la adquisici3n de secuencias ponderadas en T1 permite la visualizaci3n de la degradaci3n de la barrera hematoencefálica secundaria a la inflamaci3n característica de las lesiones agudas de EM. La evidencia hasta la fecha sugiere que el realce de gadolinio (Gd) es un marcador útil de la actividad de la enfermedad que se correlaciona con la recaída clínic3 (Molyneux et al., *Ann. Neurol.* 43:332-339 (1998); Kappos et al., *Lancet* 353:964-969 (1999); McFarland et al., *Multiple Sclerosis* 8:40-51 (2002)).

Las nuevas lesiones hipointensas en secuencias ponderadas en T1 en pacientes con EM se corresponden con lesiones inflamatorias con realce de Gd (que comprenden edema, desmielinizaci3n, p3rdida axonal o combinaciones de estas patologías) (Bruck et al., *Ann. Neurol.* 42:783-793 (1997)) o como lesiones crónicas con considerable p3rdida axonal. Aproximadamente la mitad de las hipointensidades T1 agudas en la RM evolucionarán a "agujeros negros T1" crónicos, que se correlacionan con la progresi3n de la discapacidad (Simon et al., *Neurology* 55:185-192 (2000)).

Como se describe con más detalle en el ejemplo 1, se realizaron dos estudios de fase 3 para estudiar el efecto de dos años de tratamiento con natalizumab. Uno de los estudios utiliz3 natalizumab solo (el estudio de monoterapia) y el otro us3 natalizumab en combinaci3n con AVONEX® (el estudio complementario de terapia). Ambos estudios de fase 3 se diseñaron con dos conjuntos de puntos finales primarios y secundarios. Los puntos finales primarios y secundarios se seleccionaron para medir los efectos del natalizumab en los aspectos inflamatorios de la enfermedad después de un promedio de un año de seguimiento en cada estudio (900 pacientes-años de observaci3n en el estudio de monoterapia, 1200 pacientes-años en el estudio de terapia adicional).

El punto final primario de estos estudios fue la tasa anualizada de recaídas clínicas. Dos de los puntos finales secundarios fueron dos medidas de resonancia magnética de la actividad de la enfermedad inflamatoria, a saber, el número medio de lesiones hiperintensas T2 nuevas o recientemente aumentadas (medir la acumulaci3n de lesiones a lo largo del tiempo) y el número medio de lesiones con realce de Gd (medici3n de la actividad aguda de la enfermedad), por orden de importancia. La proporci3n de pacientes que permanecieron sin recaídas proporcion3 un tercer punto final secundario.

Se evalu3 otra serie de puntos finales al final de cada estudio después de dos años de tratamiento con natalizumab. Los criterios de evaluaci3n para este análisis final se seleccionaron para determinar los efectos del natalizumab sobre las medidas asociadas con la progresi3n de la enfermedad de la EM. El punto final primario a los dos años fue el tiempo hasta el inicio de la progresi3n sostenida de la discapacidad, medida por los cambios en las puntuaciones de EDSS. De manera similar al análisis de un año, los puntos finales secundarios fueron RM adicionales y medidas clínicas que apoyarían el análisis primario. Los puntos finales secundarios a los dos años, clasificados en orden de

importancia, fueron la tasa de recidivas de la EM (para confirmar las observaciones de recaída de un año), el volumen medio de las lesiones hiperintensas T2 (una medida de la carga de la enfermedad EM total), la media de las lesiones T1-hipointensas (una medida de la pérdida axonal) y la progresión de la discapacidad según lo determinado por los cambios en la MSFC (para confirmar y ampliar los efectos de la discapacidad medidos por el EDSS).

Dados dos puntos finales primarios en dos puntos de tiempo diferentes (tasa de recaída anualizada en un año, tiempo hasta la progresión de la discapacidad a los dos años), se empleó el procedimiento de Hochberg para comparaciones múltiples (Hochberg, *Biometrika* 75:800-802 (1988)) para evaluar el punto final primario. Cada conjunto de puntos finales secundarios se ordenó por importancia como se menciona anteriormente. Se utilizó un procedimiento de prueba cerrado para cada conjunto, de modo que si no se lograba significación estadística para un punto final dentro de un conjunto, los puntos finales de un rango inferior en ese conjunto no se consideraron estadísticamente significativos. Los análisis de puntos finales terciarios no incluyeron ajustes para comparaciones múltiples.

15

Monoterapia con natalizumab

Estos resultados del estudio de monoterapia indicaron que el natalizumab es un tratamiento efectivo como monoterapia para EM remitente recidivante. El tratamiento con natalizumab tuvo efectos significativos sobre las tasas de recaída, la progresión de la discapacidad y todas las medidas de RM, las variables principales y secundarias del estudio. El análisis de las curvas de Kaplan-Meier indica que el impacto sobre las tasas de recaída y la progresión de la discapacidad fue aparente temprano después del inicio del tratamiento, y se mantuvo durante todo el período de tratamiento con grupos de pacientes que continúan divergiendo en el punto final. Además, estos hallazgos fueron consistentes en todos los subgrupos. Se observaron efectos positivos adicionales en las medidas de gravedad de la recaída y calidad de vida.

Los pacientes con EM tratados solo con natalizumab tuvieron un 42% menos de riesgo de que su discapacidad progresara en comparación con el placebo, según lo medido por los cambios en el EDSS, el punto final primario del estudio a los dos años ($p < 0,001$). El porcentaje de pacientes donde se estima que la discapacidad progresó fue del 17% y 29% con natalizumab y placebo, respectivamente. Además del EDSS, el natalizumab tuvo efectos significativos en todos los criterios de recaída estudiados en dos años, incluida una reducción del 68% en la tasa de recaída anualizada en comparación con placebo, con un 67% de los pacientes tratados con natalizumab que permanecieron sin recaídas en comparación con un 41% de los pacientes con placebo. Las imágenes por resonancia magnética apoyaron estos efectos observados clínicamente. Además, el tratamiento con natalizumab mejoró la calidad de vida de los pacientes medida por los componentes físicos y mentales del SF-36. Todos estos efectos fueron consistentes y significativos en los subgrupos definidos por la demografía y la actividad de la enfermedad iniciales.

Terapia combinada de natalizumab y AVONEX®

Un número significativo de pacientes que reciben las terapias actualmente aprobadas continúan experimentando actividad de la enfermedad, medida tanto clínicamente como por RM. Éste es un resultado esperado para dichos medicamentos aprobados parcialmente efectivos, cada uno de los cuales conduce a una reducción de aproximadamente 30% en la tasa de recaída (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998); Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Los datos de los ensayos de fase 3 de interferón β para el tratamiento de la EM muestran que entre el 62% y el 75% de los pacientes experimentaron al menos una recaída durante estos ensayos de dos años a pesar del tratamiento con interferón. (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998)). Del mismo modo, el 66% de los sujetos en el ensayo de etapa 3 MS de acetato de glatirámico experimentaron al menos una recaída durante el período de 2 años, lo que no fue significativamente diferente del placebo (Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Aunque actualmente se utilizan diversas estrategias terapéuticas en la práctica clínica para tratar la enfermedad de aparición durante el tratamiento (p. ej. cambio de terapia, cambio de dosis y frecuencia de interferón, terapia combinada), estas prácticas son en gran parte empíricas ya que no existen ensayos aleatorizados y controlados para evaluar la eficacia de estos enfoques.

El estudio complementario de terapia se diseñó para evaluar la eficacia de natalizumab contra el control activo en pacientes con aparición de enfermedad durante monoterapia con AVONEX®. La elección del interferón β fue respaldada por los datos disponibles sobre los mecanismos de acción propuestos para los medicamentos disponibles. Como se discutió anteriormente, natalizumab tiene un mecanismo de acción bien definido, dirigido

específicamente a la adhesión celular y la migración trans-endotelial mediante integrinas $\alpha 4$. Aunque no se conoce el mecanismo exacto por el cual el interferón- β ejerce su eficacia en la EM, el interferón- β induce una gran cantidad de procesos celulares implicados en la secreción de citocinas y cambios en el fenotipo celular. El interferón- β inhibe la producción de moléculas MHC de clase II inducidas por interferón- γ , disminuye la secreción de citoquinas proinflamatorias TH1 (TNF- α , IL-2 e interferón- γ) y aumenta la secreción de citoquinas antiinflamatorias TH2 (IL-4 y IL-10) (Rep et al., *J. Neuroimmunol.* 67:111-118 (1996); Kozovska et al., *Neurology* 53:1692-1697 (1999); Rudick et al., *Neurology* 50:1266-1272 (1998)). Además, el interferón- β puede afectar el tráfico de leucocitos mediante la supresión de las quimioquinas RANTES y MIP-1 α , así como su receptor CCR5 (Zang et al., *J. Neuroimmunol.* 112:174-180 (2001)). Existe, por lo tanto, una motivación científica para esperar que el bloqueo de integrinas $\alpha 4$ por natalizumab, cuando se agrega al interferón- β , pueda tener un efecto aditivo o sinérgico cuando se agrega al interferón- β solo.

Natalizumab también se demostró eficaz cuando para tratar pacientes que reciben simultáneamente tratamiento con AVONEX®. Antes de recibir natalizumab, estos pacientes experimentaban actividad de la enfermedad a pesar del tratamiento activo. Por lo tanto, AVONEX® sirvió como control activo. El estudio demostró que natalizumab, añadido a AVONEX®, resultó en una reducción del 24% del riesgo de progresión de la discapacidad, medida por los cambios en el EDSS ($p = 0,024$). El porcentaje de pacientes que se estima que progresó fue del 23% con natalizumab más AVONEX® en comparación con el 29% con AVONEX® solo.

Natalizumab tuvo efectos significativos en todos los criterios de recaída examinados, en comparación con AVONEX® durante dos años, incluida una reducción del 55% en la tasa de recaída anualizada, con un 54% de pacientes tratados con natalizumab sin recaídas en comparación con un 32% de los pacientes con AVONEX®. Las imágenes por resonancia magnética apoyaron estos efectos observados clínicamente. Además natalizumab, en comparación con el tratamiento con AVONEX® solo, mejoró la calidad de vida de los pacientes, medida por los componentes físicos del SF-36, con una tendencia en el componente mental. Todos estos efectos fueron consistentes y significativos en los subgrupos definidos por la demografía y la actividad de la enfermedad iniciales.

Leucoencefalopatía Multifocal Progresiva

La LMP es una enfermedad infecciosa del sistema nervioso central causada por la infección por VJC de oligodendrocitos. VJC es un virus del poliovirus humano que se cree que infecta a la mayoría de las personas sanas a una edad temprana. La seroprevalencia de anticuerpos anti-VJC en individuos sanos se ha estimado en un rango de 20% a 80% dependiendo del método de prueba empleado (Knowles et al., *J. Med. Virol.* 71:115-123 (2003)); Knowles and Sasnauskas, *J. Virol. Methods.* 109:47-54 (2003)).

La LMP aparece predominantemente en individuos inmunocomprometidos con una tasa de mortalidad ajustada por edad debida a LMP de 3.3 por millón de personas (en 1994), 89% de los cuales eran pacientes con SIDA (Holman et al., *Neuroepidemiol.* 17:303-309 (1998)). Sin embargo, también se han notificado casos raros de LMP en pacientes con trastornos autoinmunes que recibieron terapia inmunosupresora; entre éstos, tres pacientes con artritis reumatoide (Sponzilli et al., *Neurology* 25:664-668 (1975); Rankin et al., *J. Rheumatol* 22:777-79 (1995); Durez et al., *Arthritis Rheum.* 46 (9S):536 (2002)), uno de los cuales fue tratado con antagonista del factor de necrosis tumoral (FNT) (Durez et al., *Arthritis Rheum.* 46 (9S):536 (2002)). También hubo un informe de LMP en un paciente con enfermedad de Crohn, pero los tratamientos concomitantes no se especificaron (Garrels et al., *Am. J. Neuroradiol.* 17:597-600 (1996)).

La patología de la LMP es distintiva y comprende múltiples focos de desmielinización de tamaño variable, desde lesiones puntuales hasta áreas de varios centímetros. Las lesiones pueden aparecer en cualquier lugar, pero generalmente se encuentran en los hemisferios cerebrales, con menos frecuencia en el cerebelo y el tronco encefálico, y raramente en la médula espinal. Los oligodendrocitos en la zona periférica que rodea un área de desmielinización son extremadamente anormales. Los núcleos de oligodendrocitos anormales están repletos de viriones JC. Típicamente, la LMP evoluciona de forma gradual, con deterioro de la función mental y alteración del habla y la visión. El movimiento también puede verse afectado. La enfermedad progresa rápidamente y el paciente queda gravemente discapacitado, eventualmente demencial, ciego y paralizado, seguido de coma y muerte.

Se ha descrito la presencia de VJC en la sangre y la orina de pacientes con LMP e individuos sanos e inmunocompetentes (Kitamura et al., *J. Infect. Dis.* 161:1128-1133 (1990); Tornatore et al., *Ann. Neurol.* 31:454-462 (1992); Dorries et al., *Virology* 198:59-70 (1994); Sundsfjord et al., *J. Infect. Dis.* 169:485-490 (1994); Agostini et al., *J. Clin. Microbiol.* 34:159-164 (1996); Dubois et al., *AIDS* 10:353-358 (1996); Knowles et al., *J. Med. Virol.* 59:474-479 (1999); Dorries et al., *J. Neurovirol.* 9(Suppl 1):81-87 (2003)). Estos hallazgos no son predictivos ni diagnósticos de LMP en estos pacientes; por lo tanto, la relación de la carga viral de sangre u orina a PML no está clara.

La presentación clínica de la LMP depende en gran medida del tamaño y la distribución de las lesiones de la sustancia blanca que se desarrollan como resultado de la infección viral, la desmielinización y la lisis de las células gliales. Sin embargo, las características clínicas de la presentación ayudan a diferenciarla de la desmielinización asociada a la EM. A diferencia de la EM, la afectación de la PML de la médula espinal o los nervios ópticos es rara. En cambio, alrededor de un tercio de los pacientes presentarán pérdida de campo visual o ceguera cortical y otro tercio presentará alteración de la conducta mental o cambios de conducta (Dworkin et al., Curr. Clin. Top. Infect. Dis. 22:181-195 (2002)). Asimismo, a diferencia de la EM, la hemiparesia es un síntoma frecuente de presentación. Estos síntomas son típicamente subagudos en el inicio y siguen un curso lentamente progresivo. A menudo, los pacientes y sus familias son los primeros en notar el inicio de la LMP por cambios en la capacidad de realizar actividades rutinarias de la vida diaria, incluso antes de la presentación con cambios en el examen neurológico.

La RM es una herramienta sensible para la detección de lesiones de LMP en el establecimiento de signos o síntomas clínicos, aunque puede carecer de especificidad. Las lesiones típicas de la EM, la desmielinización por otras causas (por ejemplo, encefalomiелitis, encefalopatía por VIH), gliosis y edema a menudo pueden tener una apariencia similar a las lesiones tempranas de la LMP. Sin embargo, como se muestra en la tabla 1, hay características de las lesiones de LMP que ayudan a diferenciarlas de otras etiologías (Post et al., Am. J. Neuroradiol. 20:1896-1906 (1999); Yousry et al. N. Engl. J. Med. in press (2006); (Berger et al., Ann. Neurol. 44:341-349 (1998); Hoffmann et al., J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 74:1142-1144 (2003); Langer-Gould et al., N. Engl. J. Med. 353:375-381 (2005)).

Tabla 2. Diagnóstico diferencial de EM y LMP

	EM	LMP
Ubicación de nuevas lesiones	Principalmente focal, puede afectar todo el cerebro y la médula espinal, en materia blanca y posiblemente gris;	Difusa, principalmente subcortical, raramente periventricular, casi exclusivamente en la sustancia blanca, aunque se observa una extensión ocasional a la materia gris;
	Lesiones de fosa posterior observadas raras veces	Fosa posterior frecuentemente involucrada (cerebelo)
Bordes	Bordes filosos, formas en su mayoría redondas o con forma de dedo (especialmente periventriculares), confluentes con otras lesiones únicas, las fibras U pueden estar involucradas	Bordes difusos III, infiltrantes, de forma irregular, confinados a la sustancia blanca, sin afectar materia gris, empujando contra la corteza, fibras en U destruidas
Modo de extensión	Focal, agrandamiento de las lesiones en días/semanas, más tarde disminuyendo en tamaño en meses	Difuso, asimétrico, se extiende de forma homogénea, sin confluencia con otras lesiones, definido por la sustancia blanca, respetando la corteza, progresión continua
Efecto de masa	Las lesiones agudas pueden mostrar cierto efecto de masa	Sin efecto de masa incluso en lesiones grandes (pero el proceso empuja ligeramente contra la corteza)
Secuencia ponderada en T2	Lesiones agudas: centro hiperintenso, anillo isointenso, hiperintensidad discreta fuera de la estructura del anillo; Lesiones sub-agudas/crónicas: hiperintensas, sin estructura de anillo	Hiperintensa difusa, intensidad ligeramente aumentada de las áreas recién involucradas en comparación con áreas viejas, poca intensidad de señal irregular de las lesiones
Secuencia ponderada en T1	Lesiones agudas: densamente hipointensa (lesión grande) o isointensa (lesión pequeña), aumentando la intensidad de la señal a lo largo del tiempo en 80%, disminuyendo la intensidad de la señal (pérdida axonal) en aproximadamente 20%	Ligeramente hipointensa desde el comienzo, intensidad de la señal disminuye con el tiempo y a lo largo del área afectada, sin reversión de la intensidad de la señal

Secuencia Flair	Hiperintensa, muy bien definida	Hiperintensidad más obvia, la verdadera extensión de la anomalía es más visible que en las imágenes ponderadas en T2
Realce	Lesiones agudas: realce denso y homogéneo, bordes filosos Lesiones sub-agudas: realce del anillo Lesiones crónicas: sin realce	Por lo general, ningún realce, incluso en lesiones grandes, en pacientes con VIH+ es posible un realce periférico, especialmente durante la terapia
Atrofia	Posible atrofia focal debido a la degeneración focal de la materia blanca, sin progresión	Sin atrofia focal ya que la extensión del proceso patológico empuja ligeramente contra la corteza (extensión del tejido)

El análisis de RM puede proporcionar un diagnóstico diferencial de EM y LMP en pacientes que reciben natalizumab. Los pacientes con sospecha de LMP muestran la presencia de lesiones multifocales asimétricas de sustancia blanca que reflejan desmielinización por resonancia magnética. La RM de recuperación de inversión atenuada por fluido y T₂ ponderada (FLAIR) revela lesiones hiperintensas en toda la sustancia blanca subcortical supratentorial (Post et al., Am. J. Neuroradiol. 20:1896-1906 (1999)). Las lesiones de LMP en la sustancia blanca generalmente no están rodeadas de edema, no producen un efecto de masa y no muestran realce en presencia de material de contraste de gadolinio (Post et al., Am. J. Neuroradiol. 20:1896-1906 (1999)). Sin embargo, las imágenes hiperintensas ponderadas en T₂ e imágenes FLAIR no son específicas para la desmielinización y pueden representar gliosis o edema. Otros procesos desmielinizantes, encefalopáticos o isquémicos como la EM, la encefalitis posviral, la encefalopatía por VIH y el infarto pueden mostrar características de imagen no específicas similares (Olsen et al., Radiology 169:445-448 (1988), Hurley et al., J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. 15:1-6 (2003)). La ubicación de las lesiones y sus características morfológicas, la ausencia o presencia atípica de realce de gadolinio en las imágenes ponderadas en T₁ y la implementación de la RM de transferencia de magnetización también pueden ayudar a diferenciar la desmielinización de la LMP de otros procesos desmielinizantes, edema o gliosis (Ernst et al., Radiology 210:439-543 (1999); Hurley et al., J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. 15:1-6 (2003)).

El diagnóstico clínico de LMP se confirma por examen histológico y virológico del material cerebral obtenido por biopsia cerebral o postmortem. Antes de realizar una biopsia, tanto el suero como el LCR deben examinarse para detectar anticuerpos contra VJC. Un resultado positivo no confirmará la LMP, pero un resultado negativo hace que el diagnóstico de LMP sea muy poco probable. Es raro detectar anticuerpos contra JC en el LCR, y cuando se detectan, es sugestivo de una multiplicación activa de VJC dentro del SNC. La biopsia del cerebro o el material de la autopsia pueden examinarse mediante microscopía electrónica o microscopía electrónica inmunohistológica. La muestra también se puede examinar directamente para detectar el antígeno de VJC mediante inmunofluorescencia o tinción de inmunoperoxidasa. Se conoce que el aislamiento viral de VJC es difícil, pero puede intentarse a partir de células gliales fetales humanas primarias. La presencia del virus en cultivo se confirma por microscopía electrónica, inmunofluorescencia o hemaglutinación.

El análisis por PCR del LCR para ADN viral JC es una prueba altamente sensible y específica para el diagnóstico de LMP. La especificidad de esta prueba se acerca al 100%, con una sensibilidad que oscila entre 60% y 90% (Henson et al., Neurology 41:1967-1971 (1991); Gibson et al., J. Med. Virol. 39:278-281 (1993); Weber et al., AIDS 8:49-57 (1994a); Weber et al. J. Infect. Dis. 169:1138-1141 (1994b); Vago et al., J. Acquir. Imm. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. 12:139-146 (1996)). En casos de alta sospecha clínica de LMP y resultados negativos del LCR, las pruebas repetidas a menudo conducen a la detección de ADN viral de JC. Así, el análisis por PCR del LCR para ADN viral de JC se ha convertido en el método preferido para confirmar el diagnóstico de LMP.

Sin tratamiento, los pacientes con LMP tienen una tasa de mortalidad del 30% al 50% durante los primeros tres meses (Koralnik, Curr. Opt. Neurol. 17:365-370 (2004)). Antes de la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) para el VIH, alrededor del 10% de los pacientes con LMP sobrevivían más de un año. Sin embargo, desde el advenimiento de TARGA, aproximadamente el 50% de los pacientes con LMP sobreviven más de un año debido a la restauración de la función inmune a medida que aumentan los recuentos de CD4 como resultado del síndrome inflamatorio de reconstitución inmune (Geschwind et al., J. Neurovirol. 7:353-357 (2001); Berger et al., Ann. Neurol. 44:341-349 (1998); Clifford et al., Neurology 52:623-625 (1999); Tantisiriwat et al., Clin. Infect. Dis. 28:1152-1154(1999)).

Actualmente, no existe un tratamiento farmacológico establecido para la LMP. Se han probado varios

medicamentos, incluyendo aciclovir, idoxuridina, vidarabina, amantadina, adenin arabinósido, citosina arabinósido (citarabina), cidofovir, interferón α , interleucina-2 (IL-2), zidovudina, camptotecina y topotecán (Koralnik, Curr. Opt. Neurol. 17:365-370 (2004); Dworkin et al., Curr. Clin. Top. Infect. Dis. 22:181-195 (2002); Seth et al., J. Neurovirol. 9:236-246 (2003); Collazos, CNS Drugs 17:869-887 (2003); Mamidi et al., J. Neurovirol. 8:158-167 (2002); Przepiorka et al., Bone Marrow Transplant; 20:983-987 (1997); Redington et al., Arch. Neurol. 59:712-718 (2002); Padgett et al., Prog. Clin. Biol. Res. 105:107-117 (1983)). Sin embargo, la supervivencia de los pacientes con LMP parece estar mejor correlacionada con la reconstitución inmune. En pacientes trasplantados con LMP, la reducción temprana de la dosis o la interrupción de la terapia inmunosupresora se asoció con un resultado clínico favorable después del diagnóstico de LMP (Crowder et al., Am. J. Transplant 5:1151-1158 (2005); Shitrit et al., Transpl. Int. 17:658-665 (2005)). Virus JC (VJC)

El VJC es un miembro de la clase de poliomavirus humano, que pertenece a la familia Papovaviridae de virus pequeños, no desarrollados, con un genoma de cadena doble doblamente cerrado y circular de ADN. Los poliomavirus se pueden distinguir de los virus del papiloma por su menor tamaño de virión y diferente tamaño genómico y organización. Los poliomavirus son omnipresentes en la naturaleza y se pueden aislar de varias especies. El VJC fue aislado por primera vez del tejido cerebral de un paciente con leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP). El VJC comparte una homología de secuencia de nucleótidos del 75% con el poliomavirus humano BK (BKV), que se aisló de la orina de un paciente con trasplante renal con estenosis ureteral posoperatoria. Los virus BKV y VJC comparten 70% de homología con SV40. No tienen reacción cruzada serológica y las pruebas serológicas para anticuerpos son capaces de distinguir entre BKV y VJC (Demeter, in Mandell et al., eds., Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406).

La infección por VJC generalmente es subclínica, es casi universal, ocurre en la infancia y persiste durante toda la vida. Se estima que el 60-80% de los adultos en Europa y los Estados Unidos tienen anticuerpos contra VJC y que el 50% de los adultos jóvenes en el rango de edad de 30-39 años han sido infectados con VJC. Se piensa que el VJC y el BKV circulan de manera independiente. Se ha propuesto que VJC establece infecciones latentes en el riñón y/o el SNC después de una infección primaria (Demeter, in Mandell et al., eds., Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406). Durante la inmunosupresión, se ha postulado que el VJC latente se reactiva en el riñón, lo que puede conducir a viruria. Si bien la viruria puede tener algún valor predictivo para la LMP, dado que no ocurre en la mayoría de los casos de LMP, la medición del VJC solo en la orina no es suficiente para diagnosticar VJC.

Cuando el VJC viaja a través del torrente sanguíneo al cerebro, puede atacar a las células productoras de mielina. La infección cerebral resultante produce síntomas neurológicos que pueden incluir ataxia, pérdida de la función cognitiva, pérdida visual, cambios en el equilibrio y la coordinación, y pérdida de la sensibilidad. La muerte ocurre comúnmente dentro de los dos años posteriores al diagnóstico.

No existe una terapia antiviral específica que haya demostrado ser efectiva para el VJC, y el tratamiento actual de pacientes inmunodeprimidos es principalmente de apoyo y tiene la intención de reducir la inmunosupresión. El cidofovir se está estudiando actualmente como una opción de tratamiento para pacientes trasplantados, y la citarabina puede usarse en el tratamiento de la LMP, aunque actualmente hay datos contradictorios con respecto a la eficacia de la segunda (Demeter, in Mandell et al., eds., Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406; Salmaggi, Neurol. Sci. 22:17-20 (2001)).

Se ha informado de que el receptor celular para VJC es el receptor de serotonina 5HT₂(A) (Elphick et al., Science 306:1380-1383 (2004)). *In vitro*, se ha demostrado que los medicamentos antipsicóticos clorpromazina y clozapina bloquean el receptor de serotonina 5HT₂ (A) y bloquean la entrada del VJC en células. Desafortunadamente, la clorpromazina y la clozapina tienen efectos secundarios y toxicidades tan importantes, como síntomas extrapiramidales y la posibilidad de discrasias de la médula ósea, que pueden ser problemáticos para uso clínico. De acuerdo con la invención los antipsicóticos atípicos más modernos, como zispridona, risperidona y olanzapina - con mejores efectos secundarios y perfiles de toxicidad que los antipsicóticos más antiguos- son antagonistas del receptor 5HT₂ (A) significativamente más potentes *in vitro* que la clorpromazina y clozapina.

Una gran variedad de pruebas serológicas está disponible para detectar VJC, por ejemplo, fijación del complemento (CFT), inhibición de la hemaglutinación (HAI), inmunoensayo ligado a enzimas (EIA), radioinmunoanálisis (RIA), aglutinación de partículas, inmunofluorescencia (IF), hemólisis radial único y Western blot. La sensibilidad y especificidad varía mucho entre las diferentes técnicas. La mayoría de las técnicas detectarán todas las clases de anticuerpos, mientras que algunos ensayos, por ejemplo, RIA, EIA e IF se pueden diseñar para detectar una clase

específica, por ejemplo, IgM, IgG o IgA.

Selección de pacientes basada en seguridad y eficacia

5 La selección adecuada de pacientes ayuda a maximizar el perfil beneficio-riesgo del natalizumab. Natalizumab ha demostrado eficacia en pacientes sin tratamiento previo con discapacidad leve a moderada (EDSS 0 a 5,0) con actividad clínica reciente de la enfermedad (por ejemplo, una recaída en el año previo al ingreso al estudio). También ha demostrado eficacia en pacientes con discapacidad leve a moderada con actividad continua de la enfermedad a pesar del tratamiento con interferón β (por ejemplo, una recaída en el año anterior al ingreso al estudio, mientras recibía AVONEX®).

15 La relación beneficio/riesgo es distinta en ciertas otras poblaciones de pacientes. Los pacientes sin evidencia de enfermedad recurrente, es decir, sin evidencia de actividad inflamatoria clínicamente o mediante RM, como aquellos con enfermedad inactiva relativamente "benigna" o formas crónicas progresivas de EM, fueron excluidos de los ensayos de fase 3; por lo tanto, natalizumab no ha sido completamente evaluado en estas cohortes. El beneficio-riesgo también se altera en pacientes con un solo evento clínico sin características sugestivas de EM.

20 Los pacientes que están clínicamente estables con la terapia actual también tienen una relación beneficio/riesgo alterada. Si existen preocupaciones de seguridad o tolerabilidad con el tratamiento actual, o si los estudios de imagen indican enfermedad subclínica inflamatoria activa, el tratamiento con natalizumab sería apropiado. Al considerar la relación beneficio-riesgo se debe considerar si el paciente ha sufrido previamente una reacción de hipersensibilidad o ha desarrollado anticuerpos persistentes contra el natalizumab. La re-administración de natalizumab después de una reacción de hipersensibilidad no se evaluó en ensayos de fase 3. Los anticuerpos persistentes contra el natalizumab provocan una pérdida de eficacia y un aumento de los efectos secundarios relacionados con la infusión. Los pacientes inmunocomprometidos por cualquier causa, incluido el uso de medicamentos inmunosupresores, tienen un factor de riesgo independiente de LMP y otras infecciones oportunistas y no deben recibir natalizumab.

30 Otro criterio para la selección de pacientes es una lista de verificación previa a la infusión empleada por el personal de enfermería de infusión para facilitar la detección temprana de LMP y minimizar el uso inapropiado de natalizumab. La lista de verificación indica al personal de enfermería que pregunte al paciente sobre el empeoramiento continuo de los síntomas neurológicos que han persistido durante varios días, por ejemplo, disminución nueva o repentina del pensamiento, la vista, el equilibrio o la fuerza. Si un paciente informa que tiene algún síntoma descrito en la lista de verificación, se instruye al personal de enfermería para que no administre natalizumab y para derivar al paciente a su médico.

40 Esta lista de verificación también confirma que el paciente recibirá natalizumab para el tratamiento de EM recurrente, que nunca se le ha diagnosticado LMP, y actualmente no experimenta ningún síntoma que empeore continuamente y que haya persistido durante varios días. También comprueba que no se sabe que el paciente sufra de VIH o una neoplasia maligna hematológica, ni haya tenido un trasplante de órgano. Confirma que el paciente no está recibiendo tratamiento actualmente con un agente antineoplásico, inmunomodulador o inmunosupresor y que el paciente ha leído el prospecto de información del paciente de natalizumab.

45 Con respecto a los intervalos de valores, la invención comprende cada valor intermedio entre los límites superior e inferior del rango hasta al menos una décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, la invención comprende cualquier otro valor intermedio establecido. Además, la invención también comprende intervalos que excluyen uno o ambos límites superior e inferior del rango, a menos que se excluya específicamente del rango establecido.

50 Salvo que se indique lo contrario, los significados de todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento son los comúnmente entendidos por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Un experto medio en la materia apreciará también que cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en este documento también se puede usar para practicar o probar la invención. La especificación se entiende mejor en vista de las referencias citadas en este documento.

55 Cabe señalar que tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un/o", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un polipéptido sujeto" incluye una pluralidad de tales polipéptidos y la referencia a "el agente" incluye la referencia a uno o más agentes.

60

Además, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, % de pureza, longitud de polipéptidos y polinucleótidos, etc. utilizados en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, se modifican con el término "aproximadamente", a menos que se indique lo contrario. No obstante, los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se informan con la mayor precisión posible. Cualquier valor 5 numérico contiene inherentemente ciertos errores necesariamente resultantes de la desviación estándar encontrada en sus medidas respectivas en el ensayo.

EJEMPLOS

10 Los ejemplos no pretenden representar que los experimentos a continuación son todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio en peso, la temperatura es en grados centígrados y la presión es igual o cercana a la 15 atmosférica.

Ejemplo 1: Eficacia de natalizumab

La eficacia de natalizumab durante un período de dos años se ha demostrado en dos ensayos de fase 3 (Polman et al., N. Engl. J. Med. in press (2006); Rudick et al. N. Engl. J. Med. in press (2006)). En un estudio, se administró 20 natalizumab en monoterapia a pacientes con EM sin tratamiento previo y se comparó su eficacia con el placebo. En el otro estudio, se administró natalizumab a pacientes que experimentaban recaídas a pesar del tratamiento con AVONEX® concurrente y se comparó su eficacia con la de AVONEX (interferón β-1a) más placebo. Los datos a través de dos años han confirmado el beneficio que llevó a la aprobación acelerada en un año. Estos datos 25 muestran que el natalizumab es altamente eficaz para retrasar el inicio de la progresión sostenida de la discapacidad, reducir la tasa de recaída anualizada, atenuar las lesiones por resonancia magnética y mejorar la calidad de vida de los pacientes en comparación con placebo y el grupo de control activo con AVONEX®.

30 Ambos estudios de fase 3 tuvieron diseños similares. En el estudio de monoterapia, 942 pacientes con EM remitente recidivante sin tratamiento fueron aleatorizados para recibir natalizumab o placebo durante 120 semanas (30 infusiones) usando una asignación 2: 1. En el estudio adicional, 1171 pacientes que habían recibido inyecciones intramusculares semanales de 30 µg de AVONEX®, pero que habían recaído a pesar de este tratamiento, fueron aleatorizados utilizando una asignación 1:1 para agregar natalizumab o placebo a su régimen, también durante 120 35 semanas.

Los parámetros de eficacia incluyeron puntuaciones de EDSS, recaídas de EM, escáneres de resonancia magnética cerebral, puntuaciones de MSFC, pruebas de función visual y calidad de vida. Las puntuaciones de EDSS y MSFC se midieron cada 12 semanas, las resonancias magnéticas cerebrales y cuestionarios de calidad de vida se realizaron al inicio y cada año, y la recaída de la EM se midió de forma continua. 40

El tratamiento con natalizumab como monoterapia en pacientes sin tratamiento previo tuvo grandes efectos sobre el tiempo hasta el inicio de la progresión sostenida en la discapacidad y sobre la tasa de recaída anualizada, los dos puntos finales primarios, como se muestra en la tabla 2. Estos efectos significativos fueron confirmados comparados con el uso de AVONEX® solo. 45

Tabla 2. Eficacia de Natalizumab en estudios de fase 3

	Monoterapia		Terapia complementaria	
	Placebo	300 mg natalizumab	AVONEX + placebo	AVONEX + 300 mg natalizumab
Número de pacientes	315	627	582	589
Porcentaje de pacientes con avance sostenido de discapacidad	29%	17%	29%	23%
Cociente de riesgo (intervalo de confianza 95%)	0,58 (0,43, 0,77)		0,76 (0,61, 0,96)	
Reducción de riesgo	42%		24%	
valor de p	p<0,001		p=0,024	
Tasa de recaída	0,733	0,235	0,749	0,336

anualizada				
Reducción relativa	68%		55%	
valor de p	p<0,001		p<0,001	

La población de pacientes en los dos estudios de fase 3 eran pacientes con EM recurrente de acuerdo con los criterios del Panel Internacional sobre el Diagnóstico de la Esclerosis Múltiple (McDonald et al., Ann. Neurol. 50:121-127 (2001)). Abarcaba una amplia gama de edades y gravedad de la enfermedad, y representaba la población de EM recidivante actual con enfermedad activa, de acuerdo con la indicación aprobada. Se excluyeron los pacientes con EM progresiva primaria o secundaria.

Las poblaciones de pacientes objetivo para los dos estudios diferían. Los pacientes en el estudio de monoterapia esencialmente nunca habían recibido tratamiento con un fármaco inmunomodulador para la EM. Específicamente, los pacientes no debían haber recibido tratamiento con ningún inmunomodulador (β -interferón o acetato de glatirámico) durante un período superior a seis meses y no dentro de los seis meses posteriores al comienzo del estudio. El resultado fue una población de EM joven, principalmente femenina, con un grado moderado de actividad de enfermedad inicial (típica de la población general de EM), muy pocos de los cuales habían probado otro inmunomodulador antes del ingreso al estudio.

Los pacientes en el estudio complementario de terapia debieron haber recibido AVONEX® durante el año anterior y haber tenido una recaída durante ese tiempo mientras recibían el tratamiento con AVONEX®. Esto dio lugar a una población algo mayor que en el estudio de monoterapia, con una duración más larga de la enfermedad. Sin embargo, los pacientes en el estudio complementario de terapia tuvieron un grado similar de actividad de la enfermedad que aquellos en el estudio de monoterapia, a pesar del tratamiento con AVONEX®.

REIVINDICACIONES

1. Natalizumab para su uso en un método para tratar una enfermedad inflamatoria o autoinmune, donde dicho método comprende:

5

- (a) administrar una primera dosis de natalizumab durante un primer período de administración;
- (b) controlar la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración;
- (c) determinar una segunda dosis de natalizumab en base al nivel de natalizumab bivalente observado; y
- 10 (d) administrar una segunda dosis de natalizumab durante un segundo período de administración;

donde si el control muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima de un nivel predeterminado durante el primer período de administración, entonces la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo período de administración está diseñada para lograr una reducción del
15 nivel de natalizumab durante el segundo período de administración por debajo del nivel predeterminado durante al menos una porción del segundo período de administración;

donde la segunda dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento durante el segundo período de administración; y

20

donde el nivel predeterminado de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración se selecciona de entre 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml y 1 µg/ml.

2. Natalizumab para su uso en un método para tratar una enfermedad inflamatoria o autoinmune, donde dicho método comprende:

25

- (a) determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente;
- (b) administrar una primera dosis de natalizumab durante un primer período de administración, donde, en el caso de que la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente sea inferior a 200 µg/ml, la primera dosis es inferior a 300
30 mg por infusión IV y/o el período de administración es más largo que cuatro semanas;
- (c) controlar el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración;
- (d) determinar una segunda dosis y el período de administración de natalizumab en base a la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente y en el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente; y
- 35 (e) administrar la segunda dosis de natalizumab para el segundo período de administración;

donde si el control muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima de un nivel predeterminado durante el primer período de administración, entonces la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo período de administración está diseñada para lograr una reducción del
40 nivel de natalizumab durante el segundo período de administración por debajo del nivel predeterminado durante al menos una porción del segundo período de administración;

donde la segunda dosis y el período de administración mejoran la seguridad y/o eficacia del tratamiento;

45

donde el nivel predeterminado de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración se selecciona entre 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml y 1 µg/ml; y

donde la segunda dosis es inferior a 300 mg por infusión intravenosa y/o el período de administración es más largo que cuatro semanas en el caso de que el nivel de IgG4 en el plasma o suero del paciente durante el primer período
50 de administración sea inferior a 200 µg/ml.

3. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicho método también comprende:

55

- (e) administrar la segunda dosis de natalizumab durante uno o más segundos períodos de administración posteriores;

donde la segunda dosis mejora la seguridad o eficacia del tratamiento durante el segundo período de administración.

60

4. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 2, donde dicho método

también comprende:

(f) administrar la segunda dosis de natalizumab durante uno o más segundos períodos de administración posteriores;

5 donde la segunda dosis y período de administración mejoran la seguridad y/o eficacia del tratamiento.

5. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde la segunda dosis es menor que la primera dosis; o donde el segundo período de administración es más largo que el primer período de administración; o donde la segunda dosis es inferior a la primera dosis, y donde el segundo período de administración es más largo que el primer período de administración.

6. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1, donde la primera dosis es 300 mg administrados por infusión IV y el primer período de administración es cuatro semanas, y donde la segunda dosis es menor que 300 mg administrada por infusión IV y el segundo período de administración es más de cuatro semanas.

7. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde la enfermedad es esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal o artritis reumatoide.

8. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde dicho método comprende además controlar al paciente para detectar indicadores de infección grave y/o tratar al paciente con profilaxis diseñada para reducir el riesgo de desarrollar una infección grave.

9. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde dicho método comprende además controlar al paciente para detectar indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva, y preferentemente donde:

el control detecta VJC en la orina, sangre y/o líquido cefalorraquídeo del paciente; o el control incluye búsquedas de síntomas clínicos y/o radiológicos de leucoencefalopatía multifocal progresiva; o

el método además incluye, en la presencia de indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva, proporcionar al menos un tratamiento seleccionado entre terapia con inmunoglobulina intravenosa, plasmaféresis, y terapia antivírica;

y aún más preferentemente donde el paciente no recibe tratamiento simultáneo con natalizumab y un inmunosupresor o un agente antineoplásico.

10. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 2, donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 200 µg/mL, y la dosis establecida de natalizumab es menor de 300 mg por infusión IV.

11. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 2, donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 200 µg/mL, y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas.

12. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 2, donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es menor de 200 µg/mL, la dosis establecida de natalizumab es menor de 300mg por infusión IV, y el período de administración establecido es mayor de cuatro semanas.

13. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 2, donde la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente es igual o mayor de 200 µg/mL, y la primera dosis de natalizumab es de 300 mg por infusión IV durante un primer período de administración de cuatro semanas.

14. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el nivel predeterminado de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración es 0,1 µg/mL.

15. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el nivel predeterminado de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración es 0,5 µg/mL.

16. Natalizumab para su uso en el método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde el nivel predeterminado de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de administración es 1 µg/mL.