

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 681 195**

51 Int. Cl.:

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.06.2008** **PCT/US2008/066945**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.12.2008** **WO08157369**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.06.2008** **E 08771043 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.04.2018** **EP 2167038**

54 Título: **Utilización de la proteína de fusión TACI-Ig, tal como atacicept, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de lupus eritematoso**

30 Prioridad:

13.06.2007 US 943618 P
28.01.2008 US 24031

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.09.2018

73 Titular/es:

ZYMOGENETICS, INC (50.0%)
1201 Eastlake Avenue East
Seattle, WA 98102, US y
ARES TRADING S.A. (50.0%)

72 Inventor/es:

BUSBY, SHARON J.;
GROSS, JANE A.;
VISICH, JENNIFER;
NESTOROV, IVAN;
MUNAFI, ALAIN;
PAPASOULIOTIS, ORESTIS y
PENA ROSSI, CLAUDIA

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 681 195 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

Utilización de la proteína de fusión TACI-Ig, tal como atacicept, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de lupus eritematoso

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] En diversas realizaciones, la presente invención se refiere a procedimientos y composiciones para el tratamiento de enfermedades o trastornos autoinmunes del sistema inmunitario, que comprende administrar una proteína de fusión TACI-Ig, tal como atacicept, utilizando un régimen de dosificación particular que maximiza el bloqueo de las funciones de los ligandos de la familia de TNF.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La familia de ligando/receptor Blys

[0002] Los tres receptores, TACI (activador transmembrana o ligando de interacción de ciclofilina modulador de calcio), BCMA (antígeno de maduración de las células B) y BAFF-R (receptor del factor activador de células B, perteneciente a la familia de TNF), han sido identificados por tener afinidades únicas de unión para los dos factores de crecimiento BLYS (estimulador de linfocitos B) y APRIL (un ligando inductor de la proliferación) (Marsters et al Curr Biol 2000; 10 (13): 785-788; Thompson et al Science 2001; 293: 2108-2111). TACI y BCMA se unen ambos a BLYS y APRIL, mientras que BAFF-R parece capaz de unirse solo a BLYS con alta afinidad (Masters et al Curr Biol 2000; 10 (13): 785-788; Thompson et al. Science 2001; 293: 2108-2111.). Como resultado, BLYS es capaz de señalar a través de los tres receptores, mientras que APRIL sólo parece capaz de señalización a través de TACI y BCMA. Además, los complejos heterotrímeros circulantes de BLYS y APRIL (agrupaciones de tres proteínas, que contienen una o dos copias de cada uno de BLYS y APRIL) se han identificado en muestras de suero tomadas de pacientes con enfermedades reumáticas sistémicas basadas en el sistema inmunitario y se ha demostrado que inducen la proliferación de células B in vitro (Roschke et al J Immunol 2002; 169: 4314-4321). Entre las proteínas de fusión de Ig para los tres receptores, solamente TACI-Fc5, tal como atacicept, fue capaz de bloquear la actividad biológica de los complejos heterotriméricos (Roschke et al J Immunol 2002; 169: 4314-4321).

[0003] BLYS y APRIL son potentes estimuladores de la maduración la proliferación y la supervivencia de las células B, (Gross et al Nature 2000; 404: 995-999 Gross et al Immunity 2001; 15 (2): 289-302 Groom et. al., J Clin Invest 2002; 109 (1): 59-68). BLYS y APRIL pueden ser necesarios para la persistencia de enfermedades autoinmunes, especialmente aquellas que involucran células B. Los ratones transgénicos diseñados para expresar altos niveles de BLYS exhiben trastornos de las células inmunitarias y muestran síntomas similares a los observados en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) (Cheson et al Revids guidelines for diagnosis and treatment. Blood. 1996; 87: 4.990-4.997. Cheema et al Arthritis Rheum 2001; 44 (6): 13 marzo 13-1 3, 19). Del mismo modo, se ha medido un aumento de los niveles de BLYS y APRIL en las muestras de suero tomadas de pacientes con LES y otros pacientes con diversas enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide (Roschke et al J Immunol 2002; 169: 43 14-4321; Mariette X., Ann Rheum Dis 2003; 62 (2): 168-17 1; Hahne et al J Exp Med 1998; 188 (6): 1 185-1 190), extendiéndose la asociación de BLYS y/o APRIL y enfermedades mediadas por células B de modelos animales a los humanos.

Lupus eritematoso sistémico

[0004] El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune caracterizada clínicamente por una evolución creciente y menguante y por la participación de múltiples órganos, incluyendo la piel, los riñones y el sistema nervioso central (Kammer GM y Tsokos GC Eds (1999) Lupus: Molecular and Cellular Pathogenesis 1st Ed, Human Press, N. J.; Lahita RG Ed (1999) Systemic Lupus Erythromatosus 3ª edición, Academic Press, Amsterdam). La prevalencia global del LES es de aproximadamente uno de cada 2.000, y aproximadamente uno de cada 700 mujeres caucásicas desarrolla LES durante su vida. (Lahita RG (1999) Curr Opin Rheumatol Sep; 11 (5): 352-6). Sólo en los Estados Unidos, más de medio millón de personas tienen lupus eritematoso sistémico y la mayoría son mujeres en edad fértil (Hardin JA (2003) J. Exp Med. 185: 1101-1111).

[0005] No hay un criterio único para diagnosticar el LES. El Colegio Americano de Reumatología ha elaborado 11 criterios para el diagnóstico de LES, que abarcan todo el espectro clínico de LES en los aspectos de las pruebas de la piel, sistémicas y de laboratorio. Estos criterios incluyen eritema malar, erupción discoide, sensibilidad a la luz del sol, úlceras orales, artritis, serositis, riñón y la inflamación del sistema nervioso central, alteraciones de la sangre, y la presencia de anticuerpos antinucleares. Un paciente debe cumplir cuatro de estos criterios con el fin de ser clasificado como un paciente con LES. (Tan et al (1982) Arthritis Rheumatol. 25: 1271-1277). El LES generalmente se confirma mediante pruebas, incluyendo, pero no limitado a, análisis de sangre para detectar anticuerpos antinucleares; análisis de sangre y de orina para evaluar la función renal; pruebas complementarias para detectar la presencia de niveles bajos de complemento que a menudo están asociados con LES; una velocidad de sedimentación globular (VSG) o la proteína C reactiva (CRP) para medir los niveles de inflamación; los rayos X para evaluar el daño pulmonar y electrocardiogramas para evaluar el daño al corazón.

[0006] La terapia estándar para LES es la administración del glucocorticoide esteroide, un inhibidor de respuesta inmunitaria general. Se puede utilizar para aliviar los síntomas; sin embargo, no existe cura disponible actualmente para el LES. Se administra generalmente prednisona p.o. en dosis baja a un nivel de menos de 0,5 mg/kg/día. Por desgracia, esta terapia no es suficiente para mantener a los pacientes en remisión y el estallido de la enfermedad es frecuente. Los estallidos pueden ser controlados con glucocorticoides de dosis alta a través de pulsos intravenosos a 30 mg de metilprednisolona/kg/día durante 3 días consecutivos. Sin embargo, el tratamiento con esteroides a dosis altas puede presentar efectos secundarios graves para los pacientes.

[0007] Estos tratamientos estándar son generalmente no específicos, se asocian frecuentemente con efectos secundarios graves y no afectan significativamente a la progresión de la enfermedad o la transición a complicaciones renales mortales (nefritis lúpica o LN). En consecuencia, existe una gran necesidad en la técnica de desarrollar nuevos procedimientos para el tratamiento del LES.

[0008] El documento US 2007/0071760 describe procedimientos para el tratamiento de tumores malignos de células B utilizando una molécula de fusión TACI-Ig.

[0009] Stohl y Looney, Clinical Immunology (2006), vol. 121 (1), páginas 1-12, describen la terapia de depleción de células B en enfermedades reumáticas sistémicas.

[0010] Bell E., Immunology Today, Vol. 21 (6), 1 junio de 2000, página 253, describe homólogos de TNF-R en la enfermedad autoinmune.

[0011] La presente descripción se refiere a procedimientos de tratamiento de enfermedades autoinmunes. De forma ilustrativa, los procedimientos descritos en el presente documento incluyen la administración a un paciente de una composición que comprende un dominio constante de inmunoglobulina humana y dominio extracelular de TACI o un fragmento del mismo que se une a BLYS y/o APRIL.

[0012] La descripción comprende procedimientos de tratamiento de enfermedades autoinmunes, incluyendo el LES, utilizando una molécula que comprende una fusión del dominio extracelular de TACI o cualquier fragmento del mismo que retiene la capacidad de unirse a BLYS y/o APRIL, tal como atacicept.

[0013] La descripción comprende procedimientos de tratamiento de LES que comprenden la administración a un paciente en necesidad del mismo de una cantidad eficaz de una molécula de fusión que comprende una cadena constante de inmunoglobulina humana y dominio extracelular de TACI o un fragmento de dominio extracelular de TACI que se une a BLYS y/o APRIL. En una realización, el fragmento del dominio extracelular de TACI comprende uno o dos motivos de repetición de cisteína. En otra realización, el fragmento es un fragmento que comprende los aminoácidos 30-110 del dominio extracelular de TACI. En aún otra realización, el fragmento es un fragmento que comprende los aminoácidos 1-154 del dominio extracelular de TACI (SEQ ID NO: 1).

[0014] La descripción comprende procedimientos de tratamiento de LES mediante la administración a un paciente una composición que comprende un polipéptido de fusión, TACI-Fc5, que comprende un dominio constante de inmunoglobulina humana, Fc5, que tiene la secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 2 y un dominio extracelular de TACI que tiene la secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 1.

[0015] La descripción comprende procedimientos de tratamiento de LES mediante la administración a un paciente de una composición que comprende un polipéptido de fusión que comprende un dominio constante de inmunoglobulina humana con la secuencia expuesta como la SEQ ID NO: 2 y un polipéptido que se une a BLYS y/o APRIL y que es al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95% o al menos aproximadamente 99% idéntica a SEQ ID NO: 1.

[0016] Otras enfermedades autoinmunes pueden ser tratadas mediante los procedimientos de la invención mediante la administración a un paciente de un polipéptido de fusión que comprende una cadena constante de inmunoglobulina humana y dominio extracelular de TACI o un fragmento de dominio extracelular de TACI que se une a BLYS y/o APRIL. Tales enfermedades autoinmunes incluyen, pero no se limitan a artritis reumatoide (AR), enfermedad de Graves, diabetes tipo I y tipo II, esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren, esclerodermia, glomerulonefritis, rechazo de trasplantes, por ejemplo, rechazo de aloinjertos y xenoinjertos de órganos y tejidos y enfermedad de injerto contra huésped.

[0017] En una realización, los procedimientos de la presente invención comprenden la administración de una molécula de fusión atacicept a un paciente con LES en cantidades de aproximadamente 0,01 mg/kg del peso corporal del paciente a aproximadamente 25 mg/kg del peso corporal del paciente. La molécula atacicept puede administrarse repetidamente a intervalos predeterminados. De forma ilustrativa, la molécula se puede administrar varias veces durante intervalos de dosificación predeterminados. Por ejemplo, la dosificación puede ser de una dosis

relativamente baja de fármaco a intervalo de cada semana o cada tres semanas. Un tratamiento inicial con un polipéptido de fusión Atacicept puede ser seguido por la administración del polipéptido en una base bisemanal (cada dos semanas) o trisemanal (cada tres semanas) durante al menos 2 o 3 semanas más adicionales, respectivamente. Por ejemplo, el polipéptido puede ser administrado en una base bisemanal durante 2 a 30 semanas adicionales. Alternativamente, el polipéptido puede ser administrado en una base semanal o diaria.

[0018] De acuerdo con los procedimientos de la presente invención, el polipéptido atacicept pueden administrarse a un paciente con LES por vía subcutánea, por vía oral, o por vía intravenosa y en combinación con otros medicamentos. Tales medicamentos incluyen, pero no se limitan a: los AINE (fármacos anti-inflamatorios no esteroideos) tanto de venta libre como aquellos que requieren una receta, tales como diclofenaco sódico, diflunisal indometacina y nabumetona; antimaláricos, tales como sulfato de hidroxiquina y cloroquina; corticosteroides, tales como prednisona, hidrocortisona y metilprednisolona; e inmunosupresores, tales como azatioprina, ciclofosfamida, metotrexato, ciclosporina y micofenolato de mofetilo, y IgIV, DHEA y talidomida.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0019]

La figura 1 representa gráficamente la concentración de atacicept libre frente al tiempo en días para la administración subcutánea, una medición farmacocinética clave. Cada línea de la gráfica es una dosis, tal como se muestra en la leyenda.

La figura 2 representa gráficamente la concentración de complejo atacicept:BLyS frente al tiempo en días para la administración subcutánea, una medición farmacocinética clave. Cada línea de la gráfica es una dosis, tal como se muestra en la leyenda de la Figura 1.

Las Figuras 3A y 3B representan gráficamente los efectos biológicos de la administración subcutánea en varios niveles de inmunoglobulina y niveles de células B.

La figura 4 muestra la diferencia en la biodisponibilidad tal como se muestra por las mediciones de Atacicept libre para la administración subcutánea e intravenosa de atacicept.

La figura 5 representa gráficamente la actividad biológica relativamente similar observada con los dos procedimientos de administración, tal como se representa por la concentración de IgM frente al tiempo. Ver la leyenda en la Figura 4.

La Figura 6 muestra gráficamente la similitud entre los procedimientos de administración subcutánea e intravenosa, tal como se representa por atacicept libre frente al tiempo libre.

La figura 7 muestra las curvas de unión a diana relativamente similares observadas con los dos procedimientos de administración, tal como se representa por el complejo de Atacicept:BLyS frente al tiempo. Ver la leyenda en la Figura 4.

La figura 8 muestra gráficamente cómo múltiples dosis producen una actividad superior biológica, tal como se representa por la concentración de IgM frente al tiempo.

La figura 9 muestra gráficamente cómo la unión a la diana es mayor con dosis múltiples, tal como se representa por el complejo Atacicept:BLyS frente al tiempo. Ver la leyenda en la Figura 8.

La Figura 10 representa gráficamente la concentración de atacicept libre frente al tiempo en días para la administración intravenosa, una medición farmacocinética clave. Cada línea de la gráfica es una dosis, tal como se muestra en la leyenda.

La figura 11 representa gráficamente la concentración del complejo atacicept:BLyS frente al tiempo en días para la administración intravenosa, una medición farmacocinética clave. Cada línea de la gráfica es una dosis, tal como se muestra en la leyenda de la Figura 10.

La Figura 12 es una representación gráfica de las mediciones de biomarcadores usando la administración intravenosa, específicamente niveles de inmunoglobulina y niveles de células B.

Las figuras 13A y B son representaciones gráficas de la concentración de atacicept compuesto (definido como complejo de atacicept libre + complejo atacicept-BLyS) frente al tiempo para la administración subcutánea (Estudio 1). (A) Cohortes de dosis individuales; (B) Cohortes de dosis múltiples. Se presentan los promedios $\pm$ DE. Las múltiples dosis se administraron en los días 0, 7, 14, y 21. Los puntos durante la dosificación no están conectados para indicar la concentración. Los picos no fueron capturados entre las dosis.

Las figuras 14A y B son representaciones gráficas de la concentración de atacicept compuesto (definido como complejo de atacicept libre + complejo atacicept-BLyS) frente al tiempo para la administración subcutánea (Estudio 2). (A) Cohortes de dosis individuales; (B) Cohortes de dosis múltiples. Se presentan los promedios $\pm$ DE. Las dosis múltiples se administraron en los días 0 y 21.

Las Figuras 15A, B, y C son perfiles resumen de inmunoglobulina en el Estudio 1 (administración subcutánea) por cohorte (% de la línea base, promedio $\pm$ DE). (A) IgM; (B) IgA, (C) IgG. Estas figuras extienden los datos presentados en la Figura 3A y 3B.

Las Figuras 16A, B, y C son perfiles resumen de inmunoglobulina en el Estudio 2 (administración intravenosa) por cohorte (% de la línea base, promedio $\pm$ DE). (A) IgM; (B) IgA, (C) IgG. Estas figuras extienden los datos presentados en la Figura 12.

Las figuras 17A, B, y C representan gráficamente la relación entre la dosis subcutánea de atacicept (Estudio 1) y la respuesta de inmunoglobulina máxima observado (en % de disminución desde el valor de la línea base). Las barras representan el promedio $\pm$ DE. (A) IgM; (B) IgA, (C) IgG.

Las figuras 18A, B, y C representan gráficamente la relación entre la dosis intravenosa de atacicept (Estudio 2) y la

respuesta de inmunoglobulina máxima observada (en % de disminución desde el valor de la línea base). Las barras representan el promedio $\pm$ DE. (A) IgM; (B) IgA, (C) IgG.

Las Figuras 19A y B muestran los perfiles de IgM (promedio $\pm$ DE) en las mismas cohortes de dosis individuales de los estudios por vía subcutánea e intravenosa. (A) 3 mg/kg; (B) 9 mg/kg.

- 5 Las Figuras 20A y B muestran perfiles de complejo Atacicept:BlyS (promedio $\pm$ DE) en las mismas cohortes de dosis individuales de los estudios por vía subcutánea e intravenosa. (A) 3 mg/kg; (B) 9 mg/kg.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

- 10 **[0020]** En diversas realizaciones, la presente invención se refiere a procedimientos de tratamiento de una enfermedad autoinmune en un paciente mediante la inhibición de la interacción de BlyS y/o APRIL con sus receptores. El paciente puede ser un mamífero, por ejemplo un ser humano. En una realización, los procedimientos utilizan un inhibidor que comprende: 1) un polipéptido que comprende un dominio que es al menos parcialmente idéntico al dominio extracelular de TACI o un fragmento del mismo que se une a BlyS y/o APRIL; y 2) una cadena constante de inmunoglobulina humana. En una realización, los procedimientos de la invención utilizan una molécula de fusión que comprende una cadena constante de inmunoglobulina humana y cualquier polipéptido con al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95% o al menos aproximadamente 99% de identidad de secuencia con el dominio extracelular de TACI. Las patentes de Estados Unidos Nos. 5.969.102, 6.316.222 y 6.500.428 y las solicitudes de patente US 091569.245 y 091627.206 (enseñanzas de las cuales se incorporan en este documento en su totalidad por referencia) describen secuencias para el dominio extracelular de TACI, así como fragmentos específicos del dominio extracelular de TACI que interaccionan con ligandos de TACI, incluyendo BlyS y APRIL. Un fragmento ilustrativo del dominio extracelular de TACI comprende uno o dos motivos de repetición de cisteína. Otro fragmento ilustrativo es un fragmento que comprende los aminoácidos 30-110 del dominio extracelular de TACI o fragmentos del mismo. Sin embargo, otro fragmento ilustrativo es un fragmento que comprende los aminoácidos 1-154 del dominio extracelular de TACI (SEQ ID NO: 1) o fragmentos del mismo.

- 30 **[0021]** Otras moléculas de fusión útiles para los procedimientos de la invención incluyen: un polipéptido de fusión entre una cadena constante de inmunoglobulina humana y el dominio extracelular de TACI completo o su ortólogo o un polipéptido de fusión entre una cadena constante de inmunoglobulina humana y cualquier fragmento del dominio extracelular de TACI que puede unirse a ligandos de BlyS y APRIL. Cualquiera de las moléculas de fusión utilizadas en los procedimientos de la invención puede referirse como una molécula de fusión TACI-Ig.

- 35 **[0022]** TACI-Fc5 es una de las moléculas de fusión TACI-Ig útiles para los procedimientos de la invención. TACI-Fc5 es un polipéptido de fusión recombinante que comprende la porción extracelular de unión a ligando del receptor TACI desde aproximadamente el aminoácido 1 a aproximadamente el aminoácido 154 (SEQ ID NO: 1) y la porción Fc modificada de la IgG humana, Fc5 (SEQ ID NO: 2). Otras moléculas TACI-Ig útiles para los procedimientos de la presente invención incluyen una molécula de fusión que comprende el polipéptido con la SEQ ID NO: 2 y un polipéptido que puede unirse a BlyS y que es al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95% o al menos aproximadamente 99% idéntica a SEQ ID NO: 1.

- 45 **[0023]** Las realizaciones de la presente invención comprenden procedimientos de utilización de una molécula de fusión TACI-Ig para el tratamiento de LES. Otras enfermedades autoinmunes que pueden ser tratadas con los procedimientos de la invención incluyen artritis reumatoide (RA), enfermedad de Graves, diabetes tipo I y tipo II, esclerosis múltiple, síndrome de Sjogren, esclerodermia, glomerulonefritis, rechazo de trasplantes, por ejemplo, rechazo de aloinjertos y xenoinjertos de órganos y tejidos, enfermedad de injerto contra huésped o cualquier otra enfermedad autoinmune que puede tratarse mediante la disminución de la cantidad de células B maduras circulantes y células secretoras de inmunoglobulina e inmunoglobulinas solubles asociadas con tales enfermedades.

- 55 **[0024]** Las realizaciones comprenden también procedimientos de tratamiento mediante la administración a un paciente de una molécula de fusión que comprende un dominio constante de inmunoglobulina humana y un polipéptido que comprende cualquier fragmento del dominio extracelular de TACI que se puede unir a BlyS y/o APRIL.

- 60 **[0025]** Una molécula de fusión TACI-Ig se puede administrar a un paciente de acuerdo con cualquier vía de administración adecuada, incluyendo, pero sin limitarse a, vía oral, intravenosa o subcutánea.

- 65 **[0026]** Las formulaciones TACI-Ig útiles para los procedimientos de la invención pueden ser preparadas y almacenadas como una solución congelada, estéril, isotónica. Tales formulaciones pueden incluir otros principios activos y excipientes, tales como, por ejemplo, cloruro de sodio, tampón fosfato e hidróxido de sodio o ácido o-fosfórico (pH 6,0). Las formulaciones TACI-Ig se pueden administrar a un paciente en combinación con otros medicamentos. Tales medicamentos incluyen, pero no se limitan a, los AINE (fármacos anti-inflamatorios no

esteroides) tanto de venta libre como aquellos que requieren una receta, tales como diclofenaco sódico, diflunisal indometacina y nabumetona; antimaláricos, tales como sulfato de hidroxiclороquina y cloroquina; corticosteroides, tales como prednisona, hidrocortisona y metilprednisolona; e inmunosupresores, tales como azatioprina, ciclofosfamida, metotrexato, ciclosporina y micofenolato de mofetilo, e IgIV, DHEA y talidomida.

[0027] Los procedimientos de la invención se pueden usar en combinación con otros procedimientos de tratamiento de enfermedades autoinmunes. Dichos otros procedimientos de tratamiento incluyen, pero no se limitan a, cirugía, acupuntura, terapia física y terapia génica. Las formulaciones TACI-Ig pueden administrarse antes, simultáneamente o posteriormente a otros procedimientos de tratamiento.

[0028] Se ha demostrado que TACI-Fc5 inhibe la activación por BLyS de la proliferación de células B in vitro. El tratamiento de ratones con TACI-Fc5 da lugar a un bloque parcial en el desarrollo de células B que tiene un efecto mínimo en precursores de células B en la médula ósea y otros linajes celulares, incluyendo células T de sangre periférica, monocitos y neutrófilos. Los ratones transgénicos modificados para sobreexpresar una forma soluble del receptor de TACI en la sangre producen menos células B maduras y muestran una reducción de los niveles de anticuerpos circulantes. Los ratones transgénicos con TACI-Fc5 tenían un número normal de células en el timo, médula ósea y ganglios linfáticos mesentéricos. No hubo diferencias significativas en las poblaciones de células T en el timo, ganglios linfáticos y el bazo. (Gross et al Inmunidad 2001; 15 (2): 289-302.)

[0029] Además, TACI-Ig puede inhibir la producción de anticuerpos específicos de antígeno en una respuesta inmunitaria en ratones si se administra durante la respuesta primaria o la respuesta secundaria a un antígeno. En estos estudios, no se observó ningún efecto sobre la respuesta de células T a una estimulación antigénica ex vivo. En un modelo animal de lupus eritematoso sistémico, el tratamiento con proteínas de fusión TACI-Ig era eficaz para limitar el inicio y la progresión de la enfermedad. (Gross et al Nature 2000; 404: 995-999). Del mismo modo, en un modelo de ratón de artritis inducida por colágeno, TACI-Ig fue capaz de inhibir el desarrollo de anticuerpos específicos de colágeno y reducir tanto la incidencia de la inflamación como la tasa de aparición de la enfermedad. (Gross et al Immunity 2001; 15 (2): 289-302.)

[0030] Una composición que comprende una molécula de fusión TACI-Ig se puede administrar a un paciente una vez o se puede administrar a un paciente repetidamente durante un período de tiempo. Por ejemplo, un paciente puede recibir una inyección subcutánea de las moléculas de TACI-Ig después de lo cual se puede controlar su estado. A los pacientes que demuestran la mejora o al menos estabilización de su estado se pueden administrar una molécula de fusión TACI-Ig repetidamente durante un período adicional de tiempo. El período de tiempo adicional puede ser de aproximadamente 2 a aproximadamente 52 semanas. Por ejemplo, a un paciente se pueden administrar tres dosis de molécula de fusión TACI-Ig durante un intervalo de cuatro semanas. Alternativamente, a un paciente se puede administrar siete dosis de una molécula de fusión TACI-Ig durante un intervalo de doce semanas. La administración de moléculas de TACI-Ig a un paciente puede ser diaria, dos veces al día, semanal, quincenal, trisemanal, mensual, bimensual, etc.

[0031] Una molécula de fusión TACI-Ig se administra a un paciente en una cantidad que es eficaz para el tratamiento de la afección del paciente. En una realización, el término "tratar" en relación una enfermedad o trastorno determinados, incluye, pero no se limita a, inhibir la enfermedad o trastorno, por ejemplo, detener el desarrollo de la enfermedad o trastorno; aliviar la enfermedad o trastorno, por ejemplo, provocar la regresión de la enfermedad o trastorno; o aliviar una afección causada por o como resultado de la enfermedad o trastorno, por ejemplo, aliviar, prevenir o tratar los síntomas de la enfermedad o trastorno. En otra realización, la cantidad puede variar de aproximadamente 0,01 mg por 1 kg de peso corporal del paciente a aproximadamente 20 mg por 1 kg de peso corporal del paciente.

[0032] Una molécula de fusión TACI-Ig se puede suministrar en cualquier forma adecuada. En una realización, la molécula se administra mediante inyección peritoneal. En otra realización, la inyección peritoneal es a través de inyección subcutánea. En otra realización, la inyección peritoneal se administra en la pared abdominal anterior. Cuando se requiere más de una inyección para administrar una dosis, las inyecciones se pueden administrar a unos pocos centímetros de distancia y relativamente cerca en el tiempo, por ejemplo tan cerca como sea razonablemente posible. Para la administración repetida del fármaco, el sitio de administración en la pared abdominal anterior se puede girar o alternar. La zonas de ejemplo para inyección subcutánea en la pared abdominal anterior incluyen área externa superior derecha, área externa inferior izquierda, área externa inferior derecha, área externa superior izquierda, área inferior mediana, así como los muslos derecho e izquierdo y los brazos. Alternativamente, una molécula de fusión TACI-Ig de la presente invención puede suministrarse a través de inyecciones intravenosas o por vía oral en forma de comprimidos, comprimidos oblongos, composiciones líquidas o geles, etc.

[0033] Las células B se cree actualmente que desempeñan un papel importante en la patogénesis del LES a través de mecanismos dependientes e independientes de anticuerpos. Además de la producción de anticuerpos, las células B citoquinas secreta numerosas citoquinas, actúan como células presentadoras de antígeno y sirven una variedad de funciones efectoras. Por lo tanto, las células B han surgido como dianas racionales para el desarrollo de fármacos en el LES (Browning JL, Nat Rev Drug Discov 2006; 5: 564-76).

[0034] Se han propuesto varias estrategias dirigidas a células B como posibles tratamientos para LES. Algunas de estas estrategias están diseñadas para eliminar las células B a través del uso de anticuerpos monoclonales dirigidos por células B (mAb) (Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge GI Ehrenstein MR, Isenberg DA. *Arthritis Rheum* 2002;46:2673-3; Looney RJ, Anolik JH, Campbell D1 Felgar RE, Young F, Arend LJ, et al., *Arthritis Rheum* 2004;50:2580-9; Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC, Ehrenstein MR, Isenberg DA., *Rheumatology* 2005;44:1542-5; Dörner T, Kaufman J, Wegener WA, Teoh N, Goldenberg DM, Burmester GR., *Arthritis Res Ther* 2006;8:R74). Aunque otras interfieren con la estimulación de células B (Baker KP, Edwards BM, Main SH, Choi GH, Wager RE, Halpern WG, et al. *Arthritis Rheum* 2003;48:3253-65; Wallace DJ, Lisse J, Stohl W, McKay J, Boling EI Merrill JT, et al., American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting, 2006; Gross JA, Dillon SR, Mudri S, Johnston J, Littau A, Roque R, et al., *Immunity* 2001; 15:289-302) o buscan reconocer selectivamente las células B productoras de autoanticuerpos (Alarcon-Segovia D, Tumlin JA, Furie RA, McKay JD, Cardiel MH, Strand V, et al., *Arthritis Rheum* 2003;48:442-54; Luger D, Dayan M, Zinger H, Liu JP, Mozes E. *J Clin Immunol* 2004;24:579-90; Mauermann N, Sthoeger Z, Zinger H, Mozes E., *Clin Exp Immunol* 2004;137:513-20).

[0035] Los intentos por inhibir la estimulación de células B se han centrado principalmente en las interacciones receptor-ligando que implican moléculas llamadas estimulador de linfocitos B (BLyS) y un ligando inductor de la proliferación (APRIL). BLyS y APRIL son miembros de la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) de citoquinas que son críticas para la supervivencia de las células B y el desarrollo después de la salida de la médula ósea. BLyS y APRIL se unen a receptores comunes y distintos. Ambas moléculas se unen a activador transmembrana y ligando de interacción de ciclofilina modulador de calcio (CAML) (TACI) y el antígeno de maduración de células B (BCMA), mientras que BLyS también se une al factor activador de células B que pertenece al receptor de la familia de TNF (BAFF-R) y APRIL interactúa con proteoglicanos.

[0036] La evidencia creciente en modelos animales y en los seres humanos apoya un papel importante para BLyS y APRIL en el desarrollo de las enfermedades autoinmunes. Los ratones transgénicos que sobreexpresan BLyS muestran una expansión de células B e hipergammaglobulinemia policlonal (Gross JA, Johnston J, Mudri S, Enselman R, Dillon S, Madden K, et al., *Nature* 2000; 404: 995-9; Mackay F, Woodcock SA, Lawton P, Ambrose C, Baetscher M, Schneider P, et al, *J Exp Med* 1999; 190: 1697-710; Khare SD, Sarosi I, Xia XZ, McCabe S, Miner K, Solovyyev I, et al, *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 3370-5). Algunos de estos ratones desarrollan un fenotipo similar al lupus que consiste en anticuerpos anti-ADN de doble cadena (dsDNA), la deposición de inmunoglobulinas en los riñones y el desarrollo acelerado de la enfermedad glomerular y los niveles de BLyS se encuentran elevados en ratones NZB/NZW F1 (BiW) y MRL-lpr/lpr propensos a lupus (Stohl W, Xu D, Kim KS, Koss MN, Jorgensen TN, Deocharan B, et al, *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2080-91). Los estudios en humanos también sugieren un papel de BLyS y APRIL en las enfermedades autoinmunes sistémicas. Los pacientes con SLE tienen niveles séricos aumentados de BLyS que se correlacionan positivamente con los niveles de anticuerpos anti-dsDNA (Zhang J, Roschke V, Baker K, Wang Z, Alarcón GS, Fessler BJ, et al, *J Immunol* 2001;166: 6-10. ; Cheema GS, Roschke V, Hilbert DM, Stohl W., *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1313-1319; Stohl W, Metyas S, Tan SM, Cheema GS, Oamar B, Xu D, et al, *Arthritis Rheum* 2003; 48: 3475-86). Los niveles séricos de APRIL son elevados en pacientes con LES en comparación con los individuos sanos y en pacientes con artritis reumatoide (Koyama T, Tsukamoto H, Miyagi Y, Himeji D, Otsuka J, Miyagawa H, et al *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1065- 7). BLyS y APRIL se han detectado en el fluido sinovial de pacientes con artritis inflamatoria (Tan SM, Xu D, Roschke V, Perry JW, Arkfeld DG, Ehresmann GR, et al, *Arthritis Rheum* 2003; 48: 982-92). Estas observaciones convincentes en ratones y seres humanos han dado lugar al desarrollo de varios antagonistas de BLyS. Uno de estos agentes es una proteína de fusión recombinante que comprende el dominio extracelular del receptor TACI unido a un dominio Fc de IgG1 humana (atacept, anteriormente denominado TACI-Ig). El Atacept bloquea la estimulación de células B por BLyS y APRIL. Varias líneas de investigación proporcionan apoyo a la expectativa de que atacept tendrá efectos potentes in vivo. En primer lugar, los ratones transgénicos que expresan atacept tienen pocas células B maduras y las concentraciones de inmunoglobulinas reducidas y el tratamiento con atacept retrasa el inicio y reduce la gravedad de la artritis en un modelo de ratón de artritis inducida por colágeno. La producción de anticuerpos anti-colágeno también se suprime (Gross JA, Dillon SR, Mudri S, Johnston J, Littau A, Roque R, et al., *Supra*). En tercer lugar, el tratamiento de ratones hembra B/W propensos a lupus con atacept retrasa el desarrollo de proteinuria y aumenta la supervivencia (Gross JA, Johnston J, Mudri S, Enselman R, Dillon S, Madden K, et al., *Supra*). Finalmente, en una comparación directa de la eficacia de atacept murino y BAFF-R-Ig (un inhibidor solo de BLyS) en ratones BiW hembra propensos a lupus, solamente atacept redujo los niveles séricos de IgM, disminuyó la frecuencia de células plasmáticas en el bazo e inhibió la respuesta de IgM a un antígeno dependiente de las células T, lo que sugiere un papel para APRIL en estos procesos (Ramanujam M, Wang X, Huang W, Liu Z, Schiffer L, Tao H, et al., *J Clin Invest*. 2006; 116: 724-34). A la luz de estos datos preclínicos alentadores, los presentes solicitantes examinaron el efecto biológico, la farmacocinética, la farmacodinámica y la seguridad de Atacept en ensayos clínicos en pacientes con LES.

[0037] En los ensayos en fase I exploratorios descritos en los Ejemplos 1 y 2 a continuación, atacept fue bien tolerado a nivel local y sistémicamente en pacientes con LES. Se han observado claros signos de actividad biológica de Atacept en esta indicación prospectiva, muy en línea con su mecanismo de acción (MOA).

[0038] De acuerdo con los conceptos actuales en relación con el mecanismo de acción (MOA) para atacicept y sin estar ligado por la teoría, la inhibición de BLyS y APRIL da lugar a efectos sobre las células B, incluyendo la secreción de anticuerpos no específicos y específicos, que en última instancia afectan a diversos biomarcadores relacionados con LES y marcadores de eficacia clínica. Como es típico para los estudios de fase I, la atención en el análisis actual se centra en las primeras etapas de la cascada de MoA y específicamente sobre las respuestas que comienzan con los biomarcadores tempranos de la inhibición de BLyS y APRIL (tal como el complejo atacicept-BLyS), y efectos biológicos (tales como los niveles de Ig).

[0039] Atacicept mostró PK multi-fásica, no lineal, caracterizada por un aumento de más de un incremento proporcional a la dosis en la exposición a fármaco libre y un aumento saturado (menos que proporcional a la dosis) en la exposición a complejo atacicept-BLyS. Este tipo de comportamiento se espera y se ha descrito en pacientes con RA. Es compatible con la hipótesis de que la PK de atacicept está mediada por sus ligandos. En general, la PK de atacicept, aunque no lineal, era consistente y predecible a través de las dosis, entre las dosis individuales y múltiples. Los tres marcadores de PK de Atacicept se comportan de manera muy similar en los pacientes con LES y RA, lo que indica que el tipo de enfermedad autoinmune no es un determinante importante de la PK de Atacicept.

[0040] La acumulación continua de complejo Atacicept-BLyS con administración de dosis múltiples (hasta cuatro dosis semanales para las cohortes 5 y 6, Estudio 1), junto con la acumulación mínima de atacicept libre, proporcionan evidencias de la presencia de considerable carga inicial de BLyS y APRIL libres solubles, tanto sistémicamente como en la periferia. Los elevados niveles de BLyS de la línea base medidos en estos estudios (en comparación con sujetos normales de la literatura) hablan a favor de esta hipótesis.

[0041] También es muy probable que, una vez que el equilibrio antes de la dosis existente entre los ligandos solubles y sus receptores se interrumpe mediante la administración de atacicept, se inician los procesos de redistribución cinética de complejos entre el sistema de circulación de la sangre, el sistema linfático y los compartimentos periféricos. Esta redistribución implica tanto el fármaco y sus ligandos y, dado el tamaño de las moléculas implicadas, es probable que tome al menos varias semanas hasta que se establezca un nuevo equilibrio.

[0042] Por otra parte, la acumulación de complejo prolongado puede implicar importantes tasas de generación endógena de los ligandos libres (de nuevo tanto en la circulación de la sangre como en los tejidos periféricos). Los datos publicados con respecto a la tasa de aumento de BLyS en suero después de la administración de rituximab (Cambridge et al, Arthritis Rheum 2006; 54: 723-732) parecen proporcionar evidencia adicional de que la producción de BLyS endógena desempeña un papel importante en la inhibición de BLyS y deben ser considerados. El tiempo para alcanzar el estado de equilibrio (más allá de un mes de dosificación semanal) apoya esas hipótesis.

[0043] La cinética saturable de atacicept se observó primero y describió con dosis de Atacicept individuales aplicadas a voluntarios sanos y pacientes con RA en estudios de fase I previos e indica que la inhibición de BLyS (y APRIL) es saturable, es decir, el aumento de la exposición a atacicept más allá del punto de saturación lograría rendimientos decrecientes en términos de unión a BLyS (y finalmente APRIL). Este fenómeno se debe considerar y explotar a la hora de seleccionar los regímenes de dosificación terapéuticos.

[0044] Debe enfatizarse que la saturación adecuada de la inhibición de BLyS (y APRIL) necesita que se mantenga en el tiempo, y se debe lograr por un patrón de exposición a atacicept apropiado en el tiempo. Esto último requerirá un equilibrio dinámico entre los complejos procesos y ampliamente no caracterizados de la generación y redistribución de BLyS y APRIL endógenos y el perfil cinético creado de atacicept. Dicho equilibrio sólo puede conseguirse por un diseño apropiado del régimen de dosificación, no sólo en términos de niveles de dosis, sino también de la frecuencia de dosificación.

[0045] Una relación bien definida entre dosis acumulativa de atacicept y la respuesta de anticuerpos Ig se ha establecido por procedimientos no compartimentales; dicha relación se detectó primero con dosis de Atacicept individuales en voluntarios sanos y con dosis únicas y múltiples de Atacicept en pacientes con RA. En los estudios actuales, los tres marcadores de Ig monitorizados mostraron disminuciones rápidas después de la primera dosis de atacicept. Después de cuatro dosis semanales, los tres biomarcadores de la respuesta de anticuerpos disminuyeron gradualmente y constantemente hacia el estado estacionario aparentemente sin llegar al mismo durante el período de dosificación.

[0046] La observación de que la frecuencia de dosificación parece jugar un papel al menos tan importante como el nivel de dosis en la respuesta de los tres biomarcadores, primero realizada en el estudio con RA se confirma con los datos de LES después de la administración subcutánea (Estudio 1). En general, los biomarcadores se comportan de manera muy similar a niveles de dosis similares, tanto en la población con LES como con RA, subrayando la raíz común en el MoA de ambas indicaciones sobre la base de la inhibición de BLyA (y APRIL).

[0047] Otro dato interesante surge de la comparación de la PK y los resultados de actividad biológica entre los dos estudios. Aunque ninguno de ellos ha sido diseñado para hacer frente a la cuestión de disponibilidad subcutánea, una comparación de las áreas parciales y totales bajo las curvas de concentración - tiempo (AUC) de atacicept libre y compuesto después de las dosis subcutánea e intravenosa similares (cohorte 3, Estudio 1 frente cohorte 1 Estudio

2, y cohorte 4, Estudio 1 frente a cohorte 2, Estudio 2) permite la derivación de una estimación aproximada de la biodisponibilidad "promedio". De las Tablas 2ab y 3ab estas estimaciones son de aproximadamente 35-40% tanto para el fármaco libre como compuesto - un número que no está fuera de las cifras aproximadas para las moléculas con pesos moleculares grandes (Porter y Charman, J Pharm Sci 2000; 89: 297 -310).

[0048] Sin embargo, la inspección de los marcadores de actividad biológica revela que dosis similares producen una actividad biológica similar independientemente de la vía de administración, tal como se ilustra para la IgM en la figura 19. A primera vista, la observación de que exposiciones sistémicas 2,5 - 3 veces diferentes al fármaco pueden dar lugar a efectos biológicos similares contradice los paradigmas establecidos; en el caso de Atacicept, sin embargo, este fenómeno puede estar bien fundado.

[0049] La comprensión actual de la absorción de grandes moléculas de proteínas después de la administración subcutánea afirma que las proteínas drenan desde el sitio de inyección en la linfa periférica y los capilares sanguíneos y la absorción en los vasos linfáticos aumenta con el tamaño molecular. Para fármacos con PM acordes con el de atacicept se puede esperar que el 70 - 80% de la dosis subcutánea podría ir primero a la linfa periférica. Sin embargo, la circulación de la sangre y los sistemas linfáticos están tan estrechamente interrelacionados y conectados, que el intercambio de masa entre la sangre y los compartimentos de los ganglios debe ser bastante rápido y sin obstáculos, incluso para moléculas grandes. Este último se confirma en el caso de atacicept mediante el equilibrio comparativamente rápido (para un PM de 73,4 KDa) de los perfiles de PK intravenosa y subcutánea.

[0050] Estas consideraciones conducen a al menos dos posibles explicaciones, relacionadas, y por lo tanto de ninguna manera excluyentes mutuamente, del fenómeno observado. La explicación "cinético" plantea la hipótesis de que incluso con la administración subcutánea, se transfiere la cantidad suficiente de fármaco en la circulación de la sangre para asegurar la inhibición adecuada de BLYS y de este modo para iniciar la cascada de MoA en el compartimento central. Es bien sabido que muchos efectos biológicos se retrasan con respecto a la cinética del fármaco subyacente. Aunque en el caso del atacicept el retraso de PD no es excesivo (como se evidencia por la disminución rápida en los marcadores de Ig después de la primera dosis), parece ser suficiente para hacer que el retraso de PK causada por la absorción sea casi irrelevante. Esta hipótesis está apoyada por perfiles de complejo atacicept:BLYS casi idénticos en las mismas cohortes de dosis individuales de los estudios por vía subcutánea e intravenosa (Figura 20), donde la similitud se observa especialmente en los primeros 7 días después de la administración.

[0051] La explicación "farmacodinámica" es que tanto la circulación de la sangre como los sistemas linfáticos son "sitios de acción" para la inhibición de BLYS (y APRIL) y por tanto representa dianas para atacicept. Con la vía de administración intravenosa, el fármaco se inyecta primero en el flujo de sangre, y desde allí se distribuye a la linfa y otros tejidos periféricos (diana y no diana). Con la vía de administración subcutánea, el fármaco primero drena en el compartimento linfático y la corriente sanguínea en paralelo, y de ésta se distribuye a los otros tejidos periféricos (diana y no diana). En ambos casos la penetración del fármaco en ambos sitios de acción es inmediata y rápida y da lugar a perfiles de actividad biológica similares en cada uno de ellos.

[0052] Este caso interesante apoya la hipótesis de que la aplicación mecánica del paradigma que dicta que la evaluación de la exposición a fármacos de proteínas administradas por vía subcutánea se debe hacer a través del parámetro biodisponibilidad sistémico o "suero" puede ser inadecuado o incompleto, como mucho. La regla de "cuanto mayor es la biodisponibilidad sistémica, mayor es el efecto" puede tener excepciones importantes en esta clase de fármacos.

[0053] Esto último tiene importantes implicaciones prácticas relacionadas con el desarrollo del régimen terapéutico con Atacicept. Se hace evidente que la vía intravenosa puede ser sólo un vehículo de administración de dosis mayores del fármaco al paciente si son necesarias, dado que la magnitud de una dosis subcutánea puede estar limitada por el volumen de inyección y la concentración de la solución de dosificación.

[0054] La buena tolerabilidad, actividad biológica marcada del tratamiento con Atacicept en línea con su MoA, y las otras tendencias positivas observadas en los dos estudios de fase I de LES constituyen la justificación de una mayor investigación del fármaco en pacientes con LES. De acuerdo con el paradigma de la ciencia del desarrollo de fármacos modernos en cada etapa, la nueva información generada debe ser añadida a la ya existente, mientras que la base de conocimiento sobre los fármacos se actualiza, amplía y mejora para ser utilizada posteriormente para el diseño informado del siguiente paso en un típico ciclo de "aprender y confirmar". De acuerdo a ese paradigma, se elige observar y analizar una multitud de exposición (atacicept libre y compuesto), unión específica(complejo atacicept-BLYS), la actividad biológica (recuentos de Igs y células del sistema inmunológico), y ciertos marcadores relacionados con la enfermedad (anticuerpos anti-dsDNA) en los dos primeros estudios con un diseño muy complejo (secuencial, escalada de dosis). El análisis de la gran cantidad de datos generados de una manera rigurosa y la extracción de la información que contienen, permitirá definir los rangos de dosis y regímenes para los ensayos adicionales que serán necesarios para caracterizar el perfil de seguridad de Atacicept y para mejorar la comprensión de su MoA, confirmar indicaciones iniciales de eficacia clínica, y definir su uso clínico óptimo.

Ejemplo 1 - Administración subcutánea de Atacicept

[0055] Esta prueba de fase Ib, doble ciego, escalada de dosis con placebo controlado comprendía seis cohortes (n = 8 cada uno, excepto para la Cohorte 5, n = 7) de los pacientes tratados con atacicept o placebo en una relación 3:1. Las cohortes 1-4 recibieron una dosis subcutánea individual de placebo, o 0,3, 1, 3, o 9 mg/kg de atacicept. Las cohortes 5 y 6 recibieron cuatro dosis semanales de placebo, o 1 o 3 mg/kg de atacicept (véase la Tabla 1). Los pacientes fueron seguidos durante 6 (cohortes 1-4) o 9 (cohortes 5 y 6) semanas. Las medidas resultantes fueron: (i) la tolerabilidad sistémica y local de Atacicept; (ii) frecuencia de eventos adversos (AEs); (iii) farmacocinética y farmacodinámica de atacicept, incluyendo efectos sobre subpoblaciones de linfocitos y los niveles de Ig; y (iv) las medidas de la actividad del LES.

[0056] Se inscribieron los pacientes con LES leve a moderada. La actividad biológica de atacicept se demostró mediante reducciones dependientes de la dosis en los niveles de inmunoglobulina y en las células B maduras y totales. Este efecto fue más pronunciado en las cohortes de dosis de repetición y se mantuvo durante todo el período de seguimiento. No hubo cambios en el número de células T, células asesinas naturales, o monocitos. Se produjeron reacciones secundarias leves en el lugar de administración con más frecuencia entre el grupo de Atacicept que el grupo placebo. No hubo diferencias en la frecuencia o el tipo de eventos adversos y eventos adversos no graves o graves en pacientes tratados con Atacicept.

[0057] La farmacocinética se evaluó mediante la medición de los niveles séricos de atacicept libre (Tabla 2a), complejo atacicept/BLyS (Tabla 3a), y atacicept compuesto (definido como atacicept libre + complejo atacicept-BLyS, Tabla 4a). Los niveles séricos de cada uno de éstos se cuantificaron usando un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas. El suero se incubó con un mAb de ratón conjugado con biotina específico para atacicept (detección de atacicept libre o total) (ZymoGenetics, Inc., Seattle, WA) o anticuerpos policlonales de cabra conjugados con biotina específicos para cualquiera de BLyS o atacicept (detección de complejo de atacicept/BLyS) (R & D Systems, Minneapolis, MN), inmovilizados sobre una microplaca recubierta con estreptavidina (Adaltis, Montreal, Quebec). Los anticuerpos se incubaron junto con muestras de pacientes, patrones o muestras de control diluidos 1:10 durante 1 hora. Después del lavado, un mAb de ratón específico de atacicept conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (para medir atacicept libre o complejo atacicept-BLyS) o en el caso de ELISA compuesto, se añaden mAbs contra atacicept y BLyS (ZymoGenetics, Inc.) y se incuban a temperatura ambiente durante 1 hora. En los tres ensayos, se detectaron niveles séricos de Atacicept y se cuantificaron utilizando procedimientos de quimioluminiscencia estándar, es decir, después del lavado se añadió tetrametilbenzidina (TMB) como sustrato de HRP (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). La reacción se detuvo después de 20 minutos usando ácido sulfúrico 0,5 M y la absorbancia se registró a 450 nm. La concentración de analito de una muestra de paciente se volvió a calcular utilizando la curva estándar aplicando un algoritmo polinomial de segundo orden de ajuste. Todas las muestras se midieron por triplicado. Se aceptaron los criterios de rendimiento de ensayo de una precisión de <15% de coeficiente de variación (CV) para las muestras estándar y <20% para muestras de pacientes. Los límites inferiores de cuantificación (LLOQ) de los ensayos fueron 15,6 ng/ml para atacicept libre, 5 U/ml para complejo atacicept-BLyS (1 U/ml correspondiente a 1,82 ng/ml atacicept-0,44 ng BLyS/ml en una relación molar 3:1), y 25 ng/ml para los analitos compuestos. Las recuperaciones máximas promedio para probar la exactitud para concentraciones bajas, medias y altas de analito en muestras de pacientes con RA correspondieron a tasas de recuperación de 82,5 a 97,0%, 93,9% y 102,0 a 125,8% en los tres ensayos, respectivamente. Los marcadores séricos de PK se muestrearon de la siguiente manera: (i) para la dosis individual Cohortes 1-4 - en la línea base y a las 4, 8, 12 horas en el día de la administración y a partir de entonces en los días de estudio 2, 3, 4, 8, 15, 22, 29, y 43; (ii) para los brazos de dosis múltiples en las cohortes 5 y 6 - en la línea base y después de eso en los días de estudio 8, 15, 22, 29, 36, 43, 64. En todas las cohortes, las muestras de PK en los días de dosificación se especificaron nominalmente como puntos mínimos.

[0058] Se midieron concentraciones de BLyS no unido en suero al inicio del estudio. BLyS se midió por ELISA. Se incubaron mAbs biotinilados específicos para BLyS junto con muestras de pacientes, patrones o muestras de control (diluidas 1:10) durante 1 hora en microplacas precubiertas con estreptavidina. Después del lavado, se incubaron mAbs anti-BLyS de ratón conjugados a HRP a temperatura ambiente durante 1 hora. Después del lavado, se añadió TMB como sustrato de HRP. La reacción se detuvo después de 20 minutos usando ácido sulfúrico 0,5 M y la absorbancia se registró a 450 nm. La concentración de analito de una muestra de paciente se volvió a calcular utilizando la curva estándar aplicando un algoritmo polinomial de segundo orden de ajuste. Todas las muestras se midieron por triplicado. Los criterios de rendimiento del ensayo de una precisión de <20% CV fue una medida aceptada en muestras de pacientes. El LLOQ fue 1,56 ng BLyS/ml en suero. Las recuperaciones promedio máximas de baja, media y alta concentración de analitos en muestras de pacientes con RA correspondieron a tasas de recuperación de 101-113%.

[0059] Se evaluó la farmacodinámica mediante la medición de los niveles séricos de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA), complemento-3 (C3), y los anticuerpos anti-nucleares (ANA), y mediante la realización de análisis de citometría de flujo de subconjuntos de linfocitos. Las inmunoglobulinas y C3 se midieron utilizando procedimientos estándar. Los ANA se midieron utilizando el sistema de ensayo de múltiples analitos Athena ANA (Zeus Scientific Inc, Raritan, NJ, EE.UU.). IgG, IgM e IgA se evaluaron en la sangre como marcadores de actividad biológica. Los

biomarcadores se midieron al inicio del estudio y a las 8 horas en el día de la administración (cohortes 1-4 solamente), y a partir de entonces en los Días de Estudio 8, 15, 22, 29, 36, 43, y 64.

[0060] Se evaluó un panel de tipos de células mononucleares de sangre periférica (subgrupos de células B y T, células asesinas naturales y monocitos [NK]) en muestras de sangre periférica teñidas con anticuerpos usando citometría de flujo de cuatro colores. El análisis incluyó: células T totales (CD45+, CD3+), células T cooperadoras (CD45+, CD3+, CD4+, CD8-), células T citotóxicas/supresoras (CD45+, CD3+, CD4-, CD8+), células B totales (CD19+, células B maduras (CD19+, IgD+, CD27), monocitos (CD45+, CD3-, CD14+, CD56-), y células NK (CD45+, CD3-, CD14-, CD56+). Una organización de investigación por contrato (Esoterix, Groningen, Países Bajos) llevó a cabo el procesamiento de la muestra de sangre, la tinción de anticuerpos y la adquisición, análisis y control de calidad de los datos. Se realizó un análisis posterior y de control de calidad sobre los subgrupos de células B. Para los subgrupos de células B, la puerta de análisis se amplió para incluir los linfocitos pequeños y grandes, siendo este último grupo similar en tamaño a los monocitos.

[0061] El historial clínico se recogió a la inclusión y se realizó un examen físico sobre una base semanal. Se realizaron perfiles hematológicos y de química sérica sobre una base semanal y se evaluaron utilizando los criterios de toxicidad común del Instituto Nacional del Cáncer. Las muestras de sangre para las evaluaciones farmacocinéticas se recogieron sobre una base semanal para las cohortes de dosis repetidas y en el Día 1 a las horas 4 y 8, Días 2, 3, 4 y 8 sobre una base semanal a partir de entonces para las cohortes de dosis individual. Las muestras de sangre para las evaluaciones farmacodinámicas se extrajeron en una base semanal en las cohortes de dosis de repetición y en los Días 2, 3, 8, y a continuación sobre una base semanal en las cohortes de dosis individual.

[0062] Se realizó un electrocardiograma después de D4 sobre una base bisemanal en las cohortes de dosis individual y sobre una base semanal en pacientes que recibieron dosis repetidas del fármaco del estudio.

[0063] Aunque el estudio no fue diseñado para determinar el impacto del tratamiento sobre la actividad de la enfermedad, se obtuvieron las siguientes mediciones de la actividad de la enfermedad para proporcionar datos preliminares de eficacia. Se determinaron las puntuaciones SELENA SLEDAI en la línea base y en los días 29 y 43 (cohortes 1-4) y en los días 22 y 64 (cohortes 5 y 6). El anticuerpo anti-dsDNA y los niveles de C3 se midieron en la línea base y en los días 15, 29, y 43 (cohortes 1-4), y en los días 15, 22, 29, 43, y 64 (cohortes 5 y 6).

[0064] Los procedimientos de análisis de datos incluyeron someter los perfiles de concentración-tiempo a análisis no compartimental (NCA; software WinNonLin, versión 5.0.1). Todas las mediciones por debajo del LLOQ se ignoraron para el NCA. Los datos de biomarcadores (IgM, IgG o IgA) se convirtieron en un formato de "cambio desde la línea base" y a continuación, los perfiles de biomarcadores individuales-tiempo se sometieron también a NCA. Las medidas resultantes derivadas de NCA para la exposición (PK) y la respuesta se analizaron posteriormente juntas para explorar las relaciones exposición-respuesta existentes.

[0065] Se demostró la evidencia de farmacocinética no lineal, de acuerdo con la farmacocinética de unión saturable de interacciones ligando-receptor (figuras 1 y 2). Los perfiles de concentración-tiempo de Atacicept libre y compuesto muestran una farmacocinética multifásica con absorción bastante rápida, Tmax aproximadamente 24 horas después de la primera dosis, y una fase de distribución inicial que dura 7-14 días. Se observó una baja acumulación de Atacicept libre en la cohorte de dosis de repetición; la acumulación de atacicept compuesto era marginalmente superior y se encontró que el complejo Atacicept-BlyS se acumulaba a lo largo del periodo de dosificación.

[0066] El tratamiento con atacicept se asoció con un aumento inicial transitorio en células B maduras y totales, seguido de una reducción sostenida, relacionada con la dosis (Figura 3B). En la dosis individual de los grupos de 3 mg/kg y 9 mg/kg y en los grupos de dosis repetidas, se observó una reducción de la línea base de aproximadamente 35% en las células B maduras en el Día 29. En los grupos de dosis individual, esta reducción se mantuvo hasta el día 43; en los grupos de dosis de repetición, se observó una reducción de aproximadamente 60% en el día 43 y se mantuvo en 45-60% a lo largo de la última evaluación en el día 64. Los patrones observados para células B totales fueron similares a los de las células B maduras. En el grupo de dosis individual de 3 mg/kg, se observó una reducción de la línea base de aproximadamente 30% en células B totales en el día 29, que se mantuvo hasta el Día 43. En los grupos de dosis de repetición, se observaron reducciones de aproximadamente 40-50 % en el día 43 y se mantuvieron a 35-60% a lo largo de la última evaluación en el día 64 (Figura 3B). No hubo cambios significativos en el número de células T totales, cooperativas o citotóxicas, células NK, o monocitos.

[0067] Se observaron reducciones dependientes de la dosis en los niveles de inmunoglobulinas en los pacientes tratados con Atacicept (Figura 3A y figura 3B, véase también la Tabla 5a). Este efecto fue más notable en los grupos de dosis de repetición. Los niveles de IgM mostraron los mayores descensos con tratamiento, alcanzando casi el 50% en el día 43 en el grupo de dosis de repetición de 3 mg/kg. Los niveles de IgA disminuyeron en aproximadamente un 33% en el grupo de dosis de repetición de 3 mg/kg en el día 29, y los niveles de IgG disminuyeron en aproximadamente un 16% en el grupo de dosis de repetición de 3 mg/kg en el Día 36. Los puntos más bajos se produjeron entre los días 15 y 29 en las cohortes de dosis individual y entre los días 29 y 43 en las cohortes de dosis de repetición.

[0068] A partir de entonces, los valores comenzaron a volver hacia la línea base. Los últimos valores observados fueron de aproximadamente 5-30% por debajo de la línea base en las cohortes de dosis individual (con la excepción del grupo de 0,3 mg/kg donde los valores de IgM estaban por encima de la línea base) y 8-65% por debajo de la línea base en las cohortes de dosis de repetición.

[0069] Estos resultados indican que la administración más frecuente de dosis más pequeñas de atacicept producen mejor actividad biológica que una dosificación menos frecuente con dosis más altas (Figura 7 y Figura 8).

Ejemplo 2 - administración intravenosa de Atacicept

[0070] Esta prueba de fase Ib, doble ciego, escalada de dosis con placebo controlado comprendía cuatro cohortes (n = 6 cada uno) de los pacientes tratados por vía intravenosa con atacicept o placebo en una proporción 3:1. Las cohortes 1-3 recibieron una dosis individual de placebo, 3, 9, o 18 mg/kg de atacicept. La cohorte 4 recibió dos dosis de placebo o 9 mg/kg de atacicept, la segunda dosis a las tres semanas después de la dosis inicial (véase la Tabla 1). Las medidas del resultado incluyeron: (i) la tolerabilidad sistémica y local de atacicept intravenosa; (ii) frecuencia de eventos adversos (AEs); (iii) la farmacocinética y la farmacodinámica de atacicept intravenosa, incluyendo los efectos sobre subpoblaciones de linfocitos y los niveles de Ig; y (iv) las medidas de la actividad del LES. Se evaluaron sujetos durante un periodo de 6 semanas (cohortes 1-3) o 9 semanas (cohorte 4); los sujetos de las cohortes 3 y 4 volvieron en los días de estudio 84 y 120 para PK y toma de muestras de biomarcadores. Los marcadores séricos de PK se muestrearon de la siguiente manera: (i) para la dosis individual Cohortes 1-3 – en la línea base y a las 0,25, 0,5, 4 horas en el día de la administración y después de eso en los días de estudio 2, 3, 4, 8, 15, 22, 29, y 43; (ii) para la cohorte 4 de dosis múltiple – en la línea base y a las 0,25, 0,5, 4 horas en el día de la primera administración y a partir de entonces en los días de estudio 8, 22, 22 (antes de la segunda dosis y 0,25 y 0,5 h después de la segunda dosis), 29, 36, 43, 64. Las cohortes 3 y 4 tienen mediciones de PK en los días de estudio 85 y 120. En todas las cohortes, las muestras de PK en los días de dosificación se especificaron nominalmente como puntos mínimos. Las concentraciones de BLYS no unido se midieron en suero al inicio del estudio (línea base). Se evaluaron IgG, IgM e IgA en la sangre como marcadores de actividad biológica. Los biomarcadores se midieron en la línea base, y después en los días de estudio 2, 3, 4, 8, 15 (cohortes 1-3 solamente), 22, 29, 36, 43, y 64 (Cohorte 4 solamente). Las cohortes 3 y 4 tienen también medidas de Ig en los días de estudio 85 y 120.

[0071] Como con el Ejemplo 1, se inscribieron los pacientes con LES de leve a moderada y la farmacocinética se evaluó mediante la medición de los niveles séricos de atacicept libre (Tabla 2b), complejo atacicept/BLYS (Tabla 3b), y atacicept compuesto (definido como atacicept libre + complejo atacicept-BLYS, Tabla 4b)). La actividad biológica de atacicept se demostró mediante reducciones dependientes de la dosis en los niveles de inmunoglobulina y en las células B maduras y total (véase la Figura 11, véase también la Figura 5b). Este efecto fue más pronunciado en la cohorte de dosis de repetición y se mantuvo durante todo el período de seguimiento. No hubo cambios en el número de células T, células asesinas naturales, o monocitos. Se produjeron reacciones secundarias leves en el lugar de administración con más frecuencia entre el Atacicept que el grupo con placebo. No hubo diferencias en la frecuencia o el tipo de eventos adversos y eventos adversos no graves o serios en pacientes tratados con Atacicept. La comparación entre la administración subcutánea (véase el Ejemplo 1) y las rutas de administración intravenosa reveló una farmacocinética muy similar (PK no lineal mediada por ligandos) y una PK similar que era predecible y consistente con dosis individuales y múltiples (Figuras 9 y 10).

[0072] A pesar de que no parece ser una ventaja para la administración intravenosa (a pesar de una mayor biodisponibilidad con esta vía de administración, véase la figura 4), estos resultados también apoyan la conclusión de que una administración más frecuente de dosis más pequeñas de atacicept produce una mejor actividad biológica de dosificación menos frecuente con dosis más altas (Figura 7 y Figura 8). Estos resultados también indican que a pesar de la menor biodisponibilidad del fármaco mediante la administración subcutánea, el perfil de unión de los dos procedimientos es muy comparable (véase la Figura 7).

Tabla 1. Brazos de dosificación en los estudios de Fase I de LES con Atacicept.

Estudio 1 – Atacicept subcutáneo			
Cohorte	Dosis	Administración	Número de pacientes
1	1 x 0,3 mg/kg	Dosis individual	6 activos, 2 placebo
2	1 x 1 mg/kg	Dosis individual	6 activos, 2 placebo
3	1 x 3 mg/kg	Dosis individual	6 activos, 2 placebo
4	1 x 9 mg/kg	Dosis individual	6 activos, 2 placebo
5	4 x 1 mg/kg	4 dosis semanales (CS)	6 activos, 2 placebo
6	4 x 3 mg/kg	4 dosis semanales (CS)	6 activos, 2 placebo
Estudio 2 – Atacicept intravenoso			
Cohorte	Dosis	Administración	Número de pacientes
1	1 x 3 mg/kg	Dosis individual	5 activos, 1 placebo
2	1 x 9 mg/kg	Dosis individual	5 activos, 1 placebo
3	1 x 18 mg/kg	Dosis individual	5 activos, 1 placebo

4 2 x 9 mg/kg 2 dosis 3 semanas de 5 activos, 1 placebo diferencia

CS, cada semana

Tabla 2a. Parámetros farmacocinéticos derivados de análisis no compartimental para atacicept libre, Estudio 1.

	Estimados después de la primera dosis				
	T _{1/2} (horas)	T _{máx} (horas)	C _{máx} (ng/ml)	AUC _{INF} (mg·h/l)	AUC ₃₃₆ (mg·h/l)
Cohorte 1, 0,3 mg/kg					
Promedio (DE)	401 (477)	28 (9,80)	185 (145)	30,4 (29,4)	17,6 (10,6)
Mediana	204	24	136	19,1	14,1
Cohorte 2, 1 mg/kg					
Promedio (DE)	452 (219)	18,7 (8,26)	821 (525)	108 (38,4)	69,3 (29,1)
Mediana	433	24	666	120	67,9
Cohorte 3, 3 mg/kg					
Promedio (DE)	651 (218)	28 (9,80)	2600 (745)	287 (55,6)	218 (47,2)
Mediana	572	24	2830	293	239
Cohorte 4, 9 mg/kg					
Promedio (DE)	642 (218)	32 (12,4)	6190 (3200)	634 (141)	520 (157)
Mediana	653	24	5370	608	474
Estimados después de la última dosis					
Cohorte 5, 4 x 1 mg/kg					
Promedio (DE)	690 (230)	N.E.	N.E.	147 (24,1)	56,9 (9,80)
Mediana	729	N.E.	N.E.	149	59,3
Cohorte 6, 4 x 3 mg/kg					
Promedio (DE)	472 (157)	N.E.	N.E.	209 (33,7)	96,5 (34,5)
Mediana	492	N.E.	N.E.	202	85,8

AUC₃₃₆, área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 horas al tiempo 336 horas; AUC_{INF}, AUC desde el tiempo 0 horas hasta el infinito; C_{máx}, la concentración máxima; DE, desviación estándar; T_{1/2}, semivida terminal; T_{máx}, tiempo de la concentración máxima.
 La última dosis administrada a 504 h.
 N = 6 pacientes con LES por cohorte.
 N.E. - No estimado debido al esquema de muestreo después de la última dosis.

5 Tabla 2b. Parámetros farmacocinéticos derivados de análisis no compartimental para atacicept libre, Estudio 2.

	Estimados después de la primera dosis				
	T _{1/2} (horas)	T _{máx} (horas)	C _{máx} (ng/ml)	AUC _{INF} (mg·h/l)	AUC ₃₃₆ (mg·h/l)
Cohorte 1, 3 mg/kg					
Promedio (DE)	743 (216)	0,500 (0)	39,7 (5,49)	912 (189)	815 (170)
Mediana	642	0,500	38,6	953	848
Cohorte 2, 9 mg/kg					
Promedio (DE)	722 (146)	0,350 (0,137)	198 (248)	1040 (613)	1930 (565)
Mediana	765	0,250	91,7	1770	1680
Cohorte 3, 18 mg/kg					
Promedio (DE)	796 (188)	0,400 (0,137)	289 (91,2)	5010 (743)	4840 (713)
Mediana	702	0,500	257	4880	4730
Cohorte 4, 2 x 9 mg/kg con tres semanas de diferencia					
Promedio (DE)	N.E.	1,15 (1,60)	140 (23,7)	N.E.	275 (220)
Mediana	N.E.	0,500	148	N.E.	2620
Estimados después de la última dosis					
Cohorte 2, 2 x 9 mg/kg con tres semanas de diferencia					
Promedio (DE)	748 (92,2)	504,25 (0)	109 (22,6)	4320 (1020)	4110 (971)
Mediana	710	504,25	119	4700	4520

AUC₃₃₆, área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 horas al tiempo 336 horas; AUC_{INF}, AUC desde el tiempo 0 horas hasta el infinito; C_{máx}, la concentración máxima; DE, desviación estándar; T_{1/2}, semivida

terminal; $T_{\text{máx}}$, tiempo de la concentración máxima.

La última dosis administrada a 504 h.

N = 6 pacientes con LES por cohorte.

N.E. - No estimado debido al esquema de muestreo después de la última dosis.

Tabla 3a. Parámetros farmacocinéticos derivados de análisis no compartimental para atacicept compuesto, Estudio 1.

Estimados después de la primera dosis					
	$T_{1/2}$ (horas)	$T_{\text{máx}}$ (horas)	$C_{\text{máx}}$ (ng/ml)	AUC_{INF} (mg·h/l)	AUC_{336} (mg·h/l)
Cohorte 1, 0,3 mg/kg					
Promedio (DE)	3710 (5450)	30 (14,7)	436 (300)	1360 (2120)	75,6 (36,5)
Mediana	1270	24	324	319	61,0
Cohorte 2, 1 mg/kg					
Promedio (DE)	807 (515)	16 (8,80)	1160 (597)	610 (370)	168 (47,1)
Mediana	543	16	963	441	169
Cohorte 3, 3 mg/kg					
Promedio (DE)	340 (2770)	32 (12,4)	3140 (935)	2470 (1620)	400 (69,3)
Mediana	2580	24	3130	2210	411
Cohorte 4, 9 mg/kg					
Promedio (DE)	878 (256)	32 (12,4)	8890 (4860)	1770 (378)	865 (199)
Mediana	795	24	7150	1780	807
Estimados después de la última dosis					
Cohorte 5, 4 x 1 mg/kg					
Promedio (DE)	1410 (572)	N.E.	N.E.	1570 (834)	237 (50,4)
Mediana	1610	N.E.	N.E.	1490	221
Cohorte 6, 4 x 3 mg/kg					
Promedio (DE)	1500 (545)	N.E.	N.E.	2530 (1340)	386 (83,4)
Mediana	1520	N.E.	N.E.	2070	389

AUC_{336} , área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 horas al tiempo 336 horas; AUC_{INF} , AUC desde el tiempo 0 horas hasta el infinito; $C_{\text{máx}}$, la concentración máxima; DE, desviación estándar; $T_{1/2}$, semivida terminal; $T_{\text{máx}}$, tiempo de la concentración máxima.
La última dosis administrada a 504 h.
N = 6 pacientes con LES por cohorte.
N.E. - No estimado debido al esquema de muestreo después de la última dosis.

Tabla 3b. Parámetros farmacocinéticos derivados de análisis no compartimental para atacicept compuesto, Estudio 2.

Estimados después de la primera dosis					
	$T_{1/2}$ (horas)	$T_{\text{máx}}$ (horas)	$C_{\text{máx}}$ (ng/ml)	AUC_{INF} (mg·h/l)	AUC_{336} (mg·h/l)
Cohorte 1, 3 mg/kg					
Promedio (DE)	2550 (1220)	0,350 (0,137)	57,3 (12,0)	2870 (531)	1180 (184)
Mediana	2050	0,250	55,9	2650	1200
Cohorte 2, 9 mg/kg					
Promedio (DE)	1560 (842)	0,350 (0,137)	348 (362)	4590 (520)	3210 (650)
Mediana	1600	0,250	201	4430	2880
Cohorte 3, 18 mg/kg					
Promedio (DE)	1080 (147)	0,250 (0)	411 (77,3)	7470 (1380)	5990 (863)
Mediana	1100	0,250	446	7710	6240
Cohorte 4, 2 x 9 mg/kg con tres semanas de diferencia					
Promedio (DE)	N.E.	1,05 (1,65)	361 (334)	N.E.	4720 (2400)
Mediana	N.E.	0,250	251	N.E.	4320
Estimados después de la última dosis					
Cohorte 2, 2 x 9 mg/kg con tres semanas de diferencia					

Promedio (DE)	148 (750)	504,25 (0)	240 (69,4)	8490 (2010)	6390 (1200)
Mediana	1140	504,25	272	8130	6390

AUC₃₃₆, área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 horas al tiempo 336 horas; AUC_{INF}, AUC desde el tiempo 0 horas hasta el infinito; C_{máx}, la concentración máxima; DE, desviación estándar; T_{1/2}, semivida terminal; T_{máx}, tiempo de la concentración máxima.

La última dosis administrada a 504 h.

N = 6 pacientes con LES por cohorte.

N.E. - No estimado debido al esquema de muestreo después de la última dosis.

Tabla 4a. Parámetros farmacocinéticos derivados de análisis no compartimental para el complejo BLyS-atacicept, Estudio 1.

Estimados después de la primera dosis					
	*T _{1/2} (horas)	T _{máx} (horas)	C _{máx} (kU/ml)	*AUC _{INF} (kU·h/l)	AUC ₃₃₆ (kU·h/l)
Cohorte 1, 0,3 mg/kg					
Promedio (DE)	1240 (656)	364 (126)	161 (91,9)	382 (390)	38,5 (17,8)
Mediana	1230	336	134	259	33,7
Cohorte 2, 1 mg/kg					
Promedio (DE)	821 (704)	260 (124)	269 (89,9)	362 (196)	68,7 (24,1)
Mediana	512	336	286	319	73,0
Cohorte 3, 3 mg/kg					
Promedio (DE)	1250 (517)	728 (330)	316 (30,4)	727 (323)	59,5 (13,3)
Mediana	1420	840	315	735	55,9
Cohorte 4, 9 mg/kg					
Promedio (DE)	6960 (6550)	700 (223)	369 (66,2)	2680 (2890)	69,9 (16,7)
Mediana	6220	672	388	4330	72,7
Estimados después de la última dosis					
Cohorte 5, 4 x 1 mg/kg					
Promedio (DE)	2510 (2330)	756 (92,0)	460 (122)	1700 (1330)	139 (38,1)
Mediana	1970	756	443	1260	134
Cohorte 6, 4 x 3 mg/kg					
Promedio (DE)	7680 (13200)	840 (184)	668 (159)	8050 (13700)	201 (40,6)
Mediana	2220	840	660	2450	199

AUC₃₃₆, área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 horas al tiempo 336 horas; AUC_{INF}, AUC desde el tiempo 0 horas hasta el infinito; C_{máx}, la concentración máxima; DE, desviación estándar; T_{1/2}, semivida terminal; T_{máx}, tiempo de la concentración máxima.

La última dosis administrada a 504 h. N = 6 pacientes con LES por cohorte.

N.E. - No estimado debido al esquema de muestreo después de la última dosis.

*T_{1/2} y AUC_{INF} no son estimaciones fiables para esta variable debido a la forma terminal de los perfiles

5

Tabla 4b. Parámetros farmacocinéticos derivados de análisis no compartimental para el complejo BLyS-atacicept, Estudio 2.

Estimados después de la primera dosis					
	*T _{1/2} (horas)	T _{máx} (horas)	C _{máx} (kU/ml)	*AUC _{INF} (kU·h/l)	AUC ₃₃₆ (kU·h/l)
Cohorte 1, 3 mg/kg					
Promedio (DE)	8650 (159000)	672 (206)	0,297 (0,0412)	35100 (63800)	59,6 (10,2)
Mediana	9800	672	0,300	4240	63,1
Cohorte 2, 9 mg/kg					
Promedio (DE)	3790 (2320)	605 (255)	0,352 (0,0763)	2040 (1230)	61,0 (11,4)
Mediana	3770	504	0,342	2480	58,8
Cohorte 3, 18 mg/kg					
Promedio (DE)	1800 (616)	672 (206)	0,454 (0,118)	1460 (674)	86,3 (20,0)
Mediana	1570	672	0,452	1210	84,3
Cohorte 4, 2 x 9 mg/kg con tres semanas de diferencia					
Promedio (DE)	N.E.	504 (0)	0,414 (0,121)	N.E.	78,8 (17,8)

Mediana	N.E.	504	0,397	N.E.	78,4
Estimados después de la última dosis					
Cohorte 2, 2 x 9 mg/kg con tres semanas de diferencia					
Promedio (DE)	265 (3270)	1008 (0)	0,707 (0,343)	2790 (2550)	186 (38,0)
Mediana	1140	1008	0,685	1740	195
AUC ₃₃₆ , área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 horas al tiempo 336 horas; AUC _{INF} , AUC desde el tiempo 0 horas hasta el infinito; C _{máx} , la concentración máxima; DE, desviación estándar; T _{1/2} , semivida terminal; T _{máx} , tiempo de la concentración máxima.					
La última dosis administrada a 504 h. N = 6 pacientes con LES por cohorte.					
N.E. - No estimado					
*T _{1/2} y AUC _{INF} no son estimaciones fiables para esta variable debido a la forma terminal de los perfiles					

Tabla 5a. Resultados de los análisis no compartimentales para biomarcadores de inmunoglobulina (Ig)M, IgA e IgG – Estudio 1

Cohorte*	IgM		IgA		IgG	
	T _{máx} (días)	Cambio máx. (% de la línea base)	T _{máx} (días)	Cambio máx. (% de la línea base)	T _{máx} (días)	Cambio máx. (% de la línea base)
Cohorte 1, 0,3 mg/kg s.c.						
Promedio	14,1	2,82	n.d.	n.d.	11,8	-0,377
(DE)	(17)	(23,4)			(15,7)	(17,8)
Mediana	7	10,2	n.d.	n.d.	7,00	4,07
Cohorte 2, 1 mg/kg s.c.						
Promedio	18,7	19,4	n.d.	n.d.	25,7	11,1
(DE)	(13,0)	(8,93)			(14,5)	(5,77)
Mediana	17,5	16,5	n.d.	n.d.	24,5	12,1
Cohorte 3, 3 mg/kg s.c.						
Promedio	23,3	24,8	n.d.	n.d.	29,2	10,5
(DE)	(5,70)	(3,81)			(8,20)	(1,25)
Mediana	21,0	25,2	n.d.	n.d.	28,0	10,9
Cohorte 4, 9 mg/kg s.c.						
Promedio	29,2	37,9	n.d.	n.d.	18,7	14,7
(DE)	(8,20)	(8,57)			(7,20)	(5,95)
Mediana	28,0	37,2	n.d.	n.d.	21,0	15,9
Cohorte 5, 4 x 1 mg/kg s.c. CS						
Promedio	31,0	29,2	27,0	23,1	25,0	11,5
(DE)	(11,3)	(10,0)	(10,2)	(10,1)	(11,3)	(5,84)
Mediana	35,0	31,0	28,0	20,7	28,0	14,4
Cohorte 6, 4 x 3 mg/kg s.c. CS						
Promedio	42,0	50,4	36,2	34,9	33,8	17,5
(DE)	(11,7)	(7,25)	(2,90)	(5,85)	(6,90)	(4,22)
Mediana	42,0	49,8	35,0	32,9	35,0	17,8
Placebo†						
Promedio	13,5	13,7	14,0	9,14	11,0	11,2
(DE)	(12,4)	(15,3)	(9,90)	(7,06)	(11,3)	(13,5)
Mediana	7,00	10,9	10,5	10,6	14,0	9,84

*Pacientes con dosis activa para cohortes 1-6 (n = 6)

†Cohorte de Placebo, todos los pacientes con placebo agrupados (n = 12)

T_{máx}, tiempo de la depleción máxima de Ig

n.d.: sin datos

5

Tabla 5b. Resultados de los análisis no compartimentales para biomarcadores de inmunoglobulina (Ig)M, IgA e IgG – Estudio 2

Cohorte*	IgM		IgA		IgG	
	T _{máx} (días)	Cambio máx. (% de la línea base)	T _{máx} (días)	Cambio máx. (% de la línea base)	T _{máx} (días)	Cambio máx. (% de la línea base)
Cohorte 1, 3 mg/kg i.v.						
Promedio	23,8	34,2	18,2	19,0	15,4	13,9
(DE)	(12,7)	(11,2)	(14,5)	(10,9)	(7,70)	(7,72)
Mediana	21,0	39,4	14,0	14,9	21,0	12,2
Cohorte 2, 9 mg/kg i.v.						
Promedio	25,2	33,5	21,0	26,5	21,0	17,1

(DE)	(3,80)	(5,64)	(7,00)	(3,43)	(7,00)	(3,86)
Mediana	28,0	33,6	21,0	25,8	21,0	17,1
Cohorte 3, 18 mg/kg i.v.						
Promedio	29,4	35,3	23,8	29,8	19,6	17,1
(DE)	(7,70)	(13,1)	(6,30)	(5,71)	(7,70)	(1,96)
Mediana	28,0	29,3	28,0	28,6	14,0	17,0
Cohorte 4, 2 x 9 mg/kg i.v. con tres semanas de diferencia						
Promedio	39,2	42,3	36,4	35,9	36,4	23,2
(DE)	(6,30)	(10,7)	(7,70)	(8,06)	(7,70)	(3,76)
Mediana	42,0	41,2	42,0	37,5	42,0	24,0
Placebo [†]						
Promedio	10,2	8,51	21,5	15,4	10,0	10,7
(DE)	(12,0)	(5,14)	(17,3)	(16,1)	(12,2)	(7,14)
Mediana	5,00	7,66	21,0	10,2	5,00	13,9

*Pacientes con dosis activa para cohortes 1-4 (n = 5)

[†]Cohorte de Placebo, todos los pacientes con placebo agrupados (n = 4)

T_{max}, tiempo de la depleción máxima de Ig

Referencias

- 5 **[0073]** Las referencias citadas en esta solicitud, incluyendo patentes, solicitudes publicadas y otras publicaciones se incorporan en el presente documento por referencia.

LISTADO DE SECUENCIAS

10 <110> ZymoGenetics, Inc. Busby, Sharon Gross, Jane Visich, Jennifer Nestorov, Ivan Munafo, Alain Papasouliotis, Orestis Pena Rossi, Claudia

<120> PROCEDIMIENTOS DE DOSIFICACIÓN PARA TRATAR ENFERMEDADES AUTOINMUNES UTILIZANDO UNA PROTEÍNA DE FUSIÓN TACI-IG, TAL COMO ATACICEPT

15 <130> 07-15PC

<150> 60/943,618

<151> 2007-06-13

20 <150> 61/024,031

<151> 2008-01-28

<160> 2

25 <170> PatentIn version 3.4

<210> 1

30 <211> 154

<212> PRT

<213> TACI

<400> 1

35 Met Ser Gly Leu Gly Arg Ser Arg Arg Gly Gly Arg Ser Arg Val Asp
1 5 10 15
Gln Glu Glu Arg Phe Pro Gln Gly Leu Trp Thr Gly Val Ala Met Arg
20 25 30
Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro Leu Leu Gly Thr Cys Met
35 40 45
Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser Gln Arg Thr Cys Ala Ala
50 55 60
Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu Gln Gly Lys Phe Tyr Asp
65 70 75 80
45 His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala Ser Ile Cys Gly Gln His
85 90 95
Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn Lys Leu Arg Ser Pro Val
100 105 110
50 Asn Leu Pro Pro Glu Leu Arg Arg Gln Arg Ser Gly Glu Val Glu Asn
115 120 125

Asn Ser Asp Asn Ser Gly Arg Tyr Gln Gly Leu Glu His Arg Gly Ser
 130 135 140
 Glu Ala Ser Pro Ala Leu Pro Gly Leu Lys
 145 150

5

<210> 2
 <211> 348
 <212> PRT
 10 <213> Dominio constante de inmunoglobulina humana Fc5
 <400> 2

15 Met Asp Ala Met Lys Arg Gly Leu Cys Cys Val Leu Leu Leu Cys Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Phe Val Ser Leu Ser Gln Glu Ile His Ala Glu Leu Arg Arg
 20 Phe Arg Arg Ala Met Arg Ser Cys Pro Glu Glu Gln Tyr Trp Asp Pro
 35 40 45
 20 Leu Leu Gly Thr Cys Met Ser Cys Lys Thr Ile Cys Asn His Gln Ser
 50 55 60
 Gln Arg Thr Cys Ala Ala Phe Cys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Lys Glu
 65 70 75 80
 25 Gln Gly Lys Phe Tyr Asp His Leu Leu Arg Asp Cys Ile Ser Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ile Cys Gly Gln His Pro Lys Gln Cys Ala Tyr Phe Cys Glu Asn
 100 105 110
 Lys Leu Arg Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 115 120 125
 30 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe
 130 135 140
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 145 150 155 160
 35 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 165 170 175
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 180 185 190
 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 195 200 205
 40 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 210 215 220
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 225 230 235 240
 45 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 245 250 255
 Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 260 265 270
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 275 280 285
 50 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 290 295 300
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 305 310 315 320
 55 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 325 330 335
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 340 345

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende una molécula de fusión que comprende:
(i) dominio extracelular de TACI o fragmento del mismo que se une a BlyS; y
5 (ii) un dominio constante de inmunoglobulina humana,
para usar en el tratamiento de LES en un paciente con LES de leve a moderado,
en la que dicha dosificación es de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg/kg y dicha administración se
produce a intervalos semanales durante múltiples semanas después de la dosis inicial.
- 10 2. Composición para usar, según la reivindicación 1, en la que dicho dominio extracelular de TACI tiene una
secuencia que comprende SEQ ID NO: 1, o en la que dicho dominio extracelular de TACI es al menos 50% idéntica
a SEQ ID NO: 1.
- 15 3. Composición para usar, según la reivindicación 1, en la que dicho dominio constante de inmunoglobulina humana
tiene una secuencia que comprende SEQ ID NO: 2.
4. Composición para usar, según la reivindicación 1, en la que dicha molécula de fusión es atacicept.
- 20 5. Composición para usar, según la reivindicación 1, en la que dicha composición se administra en una cantidad de
aproximadamente 1 a aproximadamente 9 mg/kg.
6. Composición para usar, según la reivindicación 1, en la que dicho dominio extracelular de TACI tiene una
secuencia que comprende los aminoácidos 30-110 de la SEQ ID NO: 1.
- 25 7. Composición para usar, según la reivindicación 5, en la que dicho tratamiento dura entre aproximadamente 2 a
aproximadamente 52 semanas.
8. Composición para usar, según cualquier reivindicación anterior, en la que dicho uso comprende además la
coadministración al paciente de un segundo medicamento.
- 30 9. Composición para usar, según la reivindicación 8, en la que el segundo medicamento se selecciona del grupo que
consiste en: AINE, medicamentos contra la malaria, corticosteroides, inmunosupresores, IgIV, DHEA y talidomida.
- 35 10. Composición para usar, según cualquier reivindicación anterior, en la que dicha composición se administra por
vía subcutánea, por vía oral o por vía intravenosa.
11. Composición para usar, según cualquier reivindicación anterior, en la que el paciente es un ser humano.
- 40 12. Composición para usar, según la reivindicación 4, en la que dicha administración es subcutánea, y dicha
dosificación es de 1 mg/kg.
13. Composición para usar, según la reivindicación 4, en la que dicha administración es subcutánea, y dicha
dosificación es de 3 mg/kg.
- 45 14. Composición para usar, según la reivindicación 12 o 13, en la que dicha administración se produce a intervalos
semanales durante cuatro semanas después de la dosis inicial.

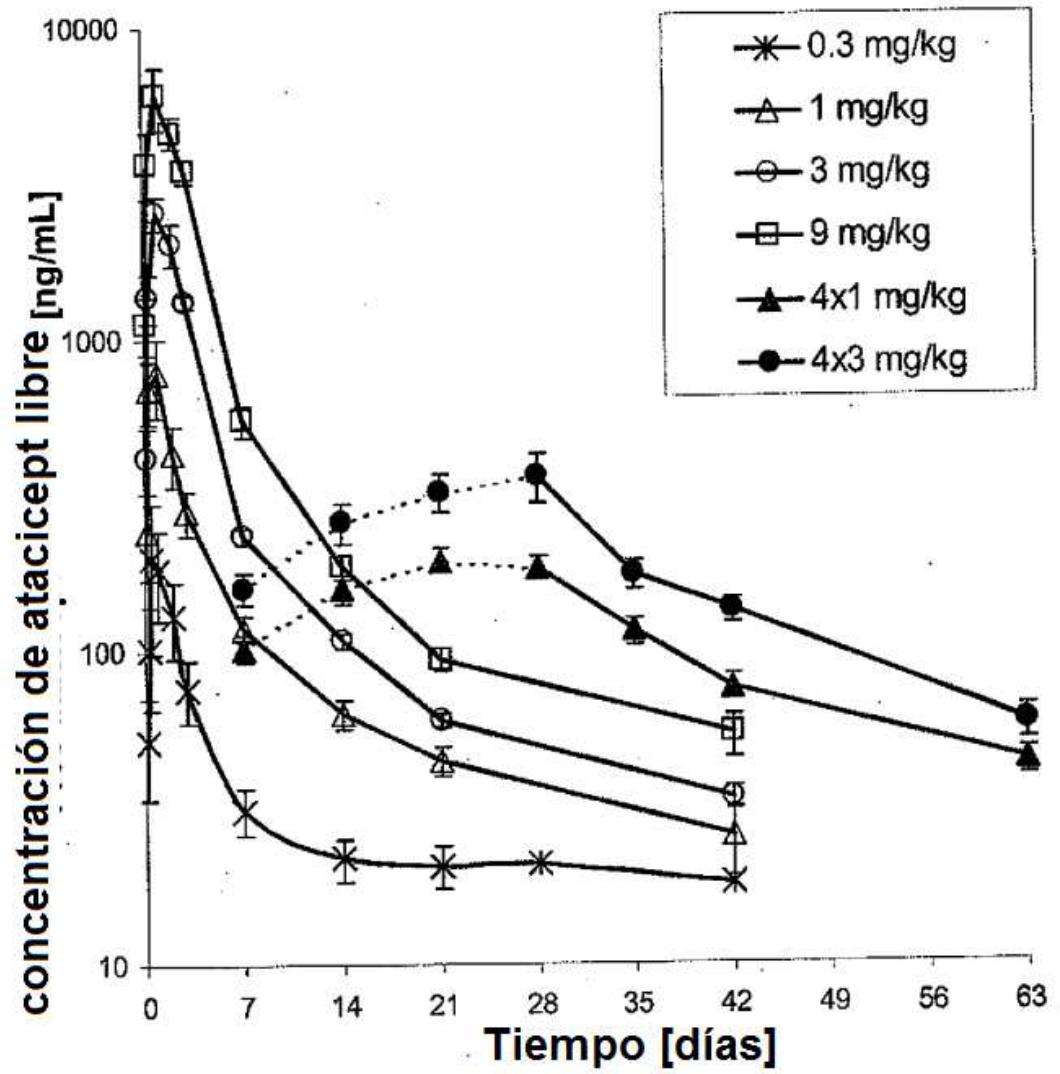


Figura 1

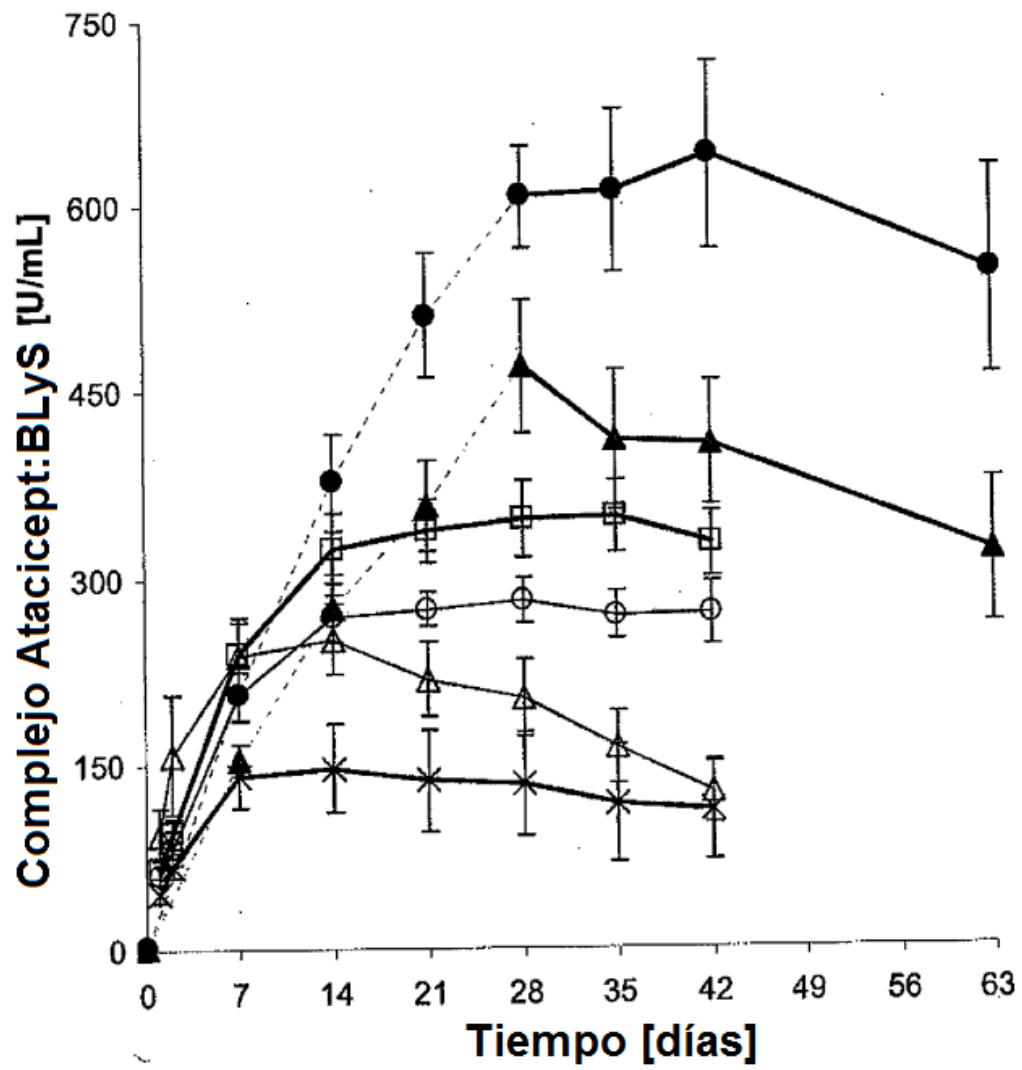


Figura 2

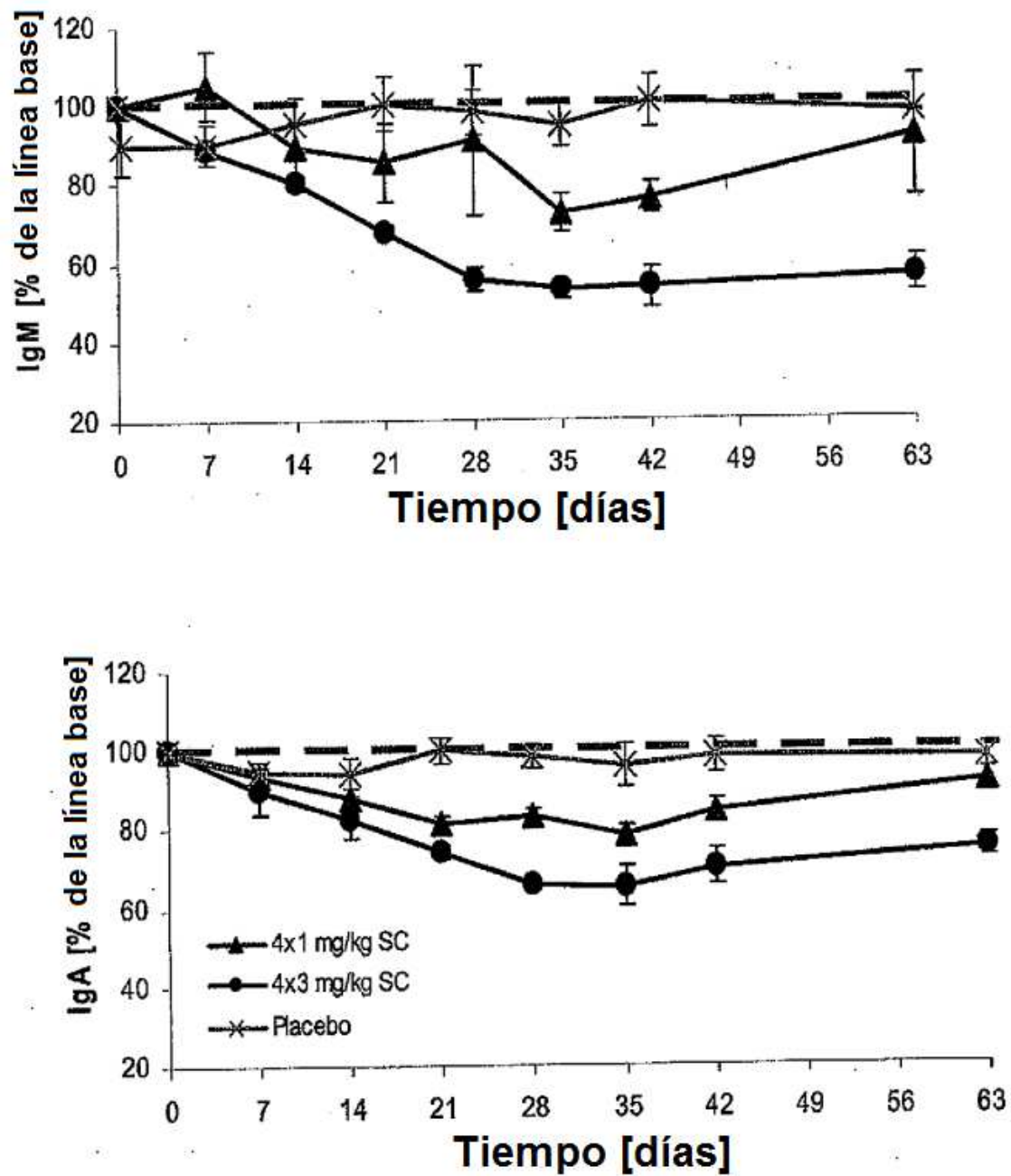


Figura 3A

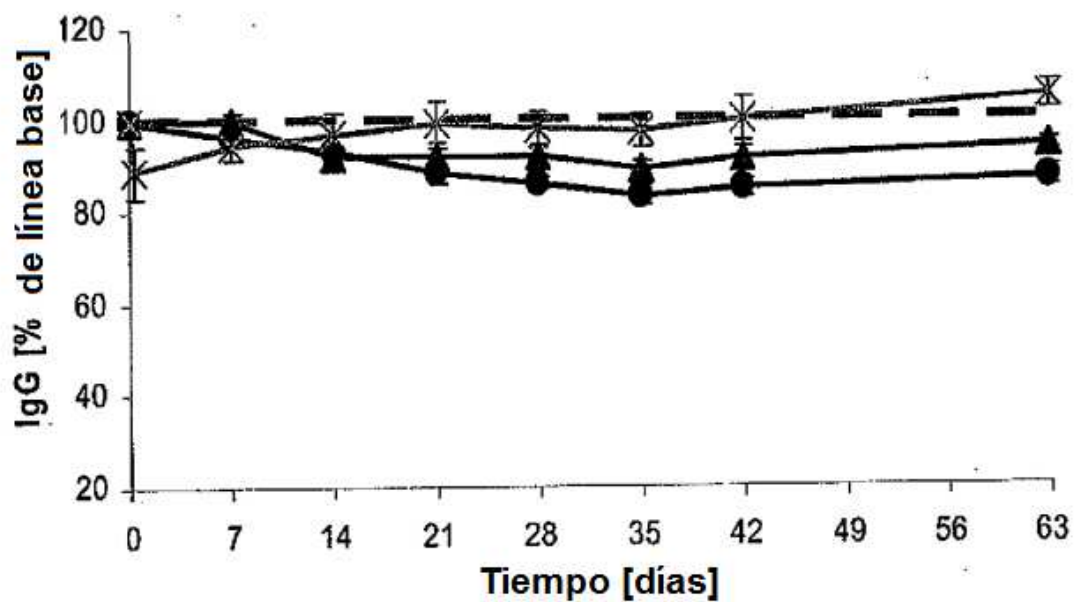
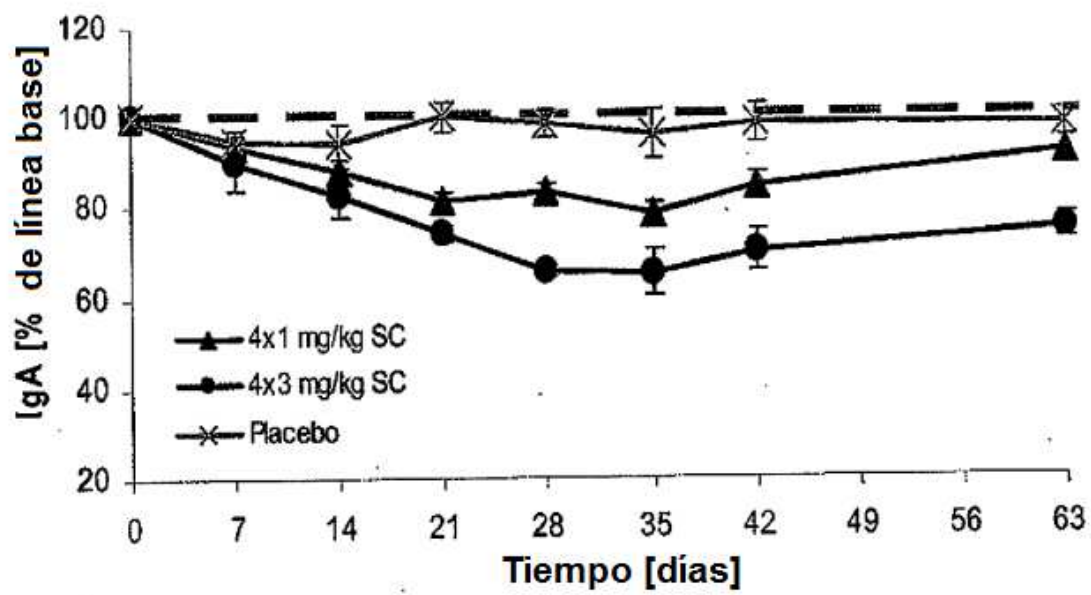


Figura 3B

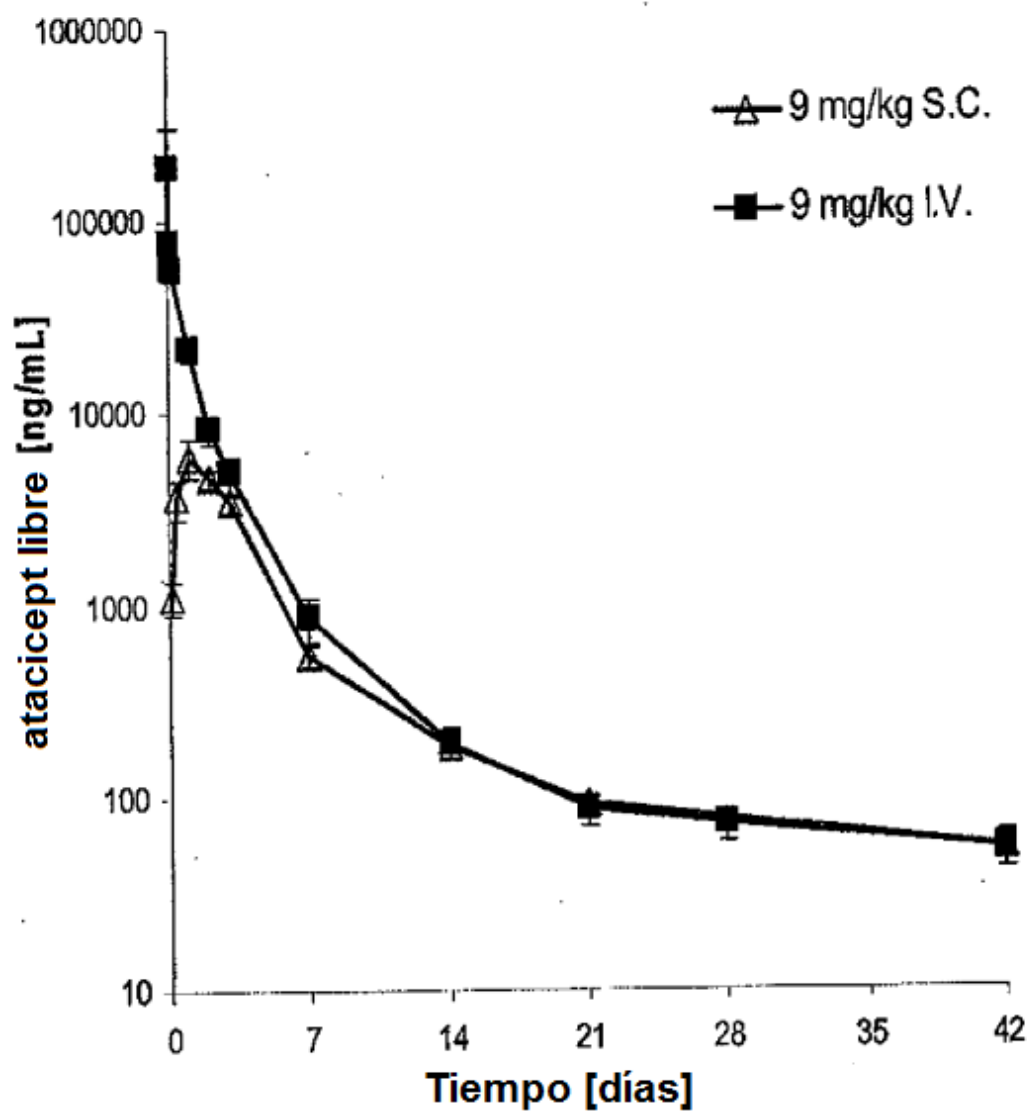


Figura 4

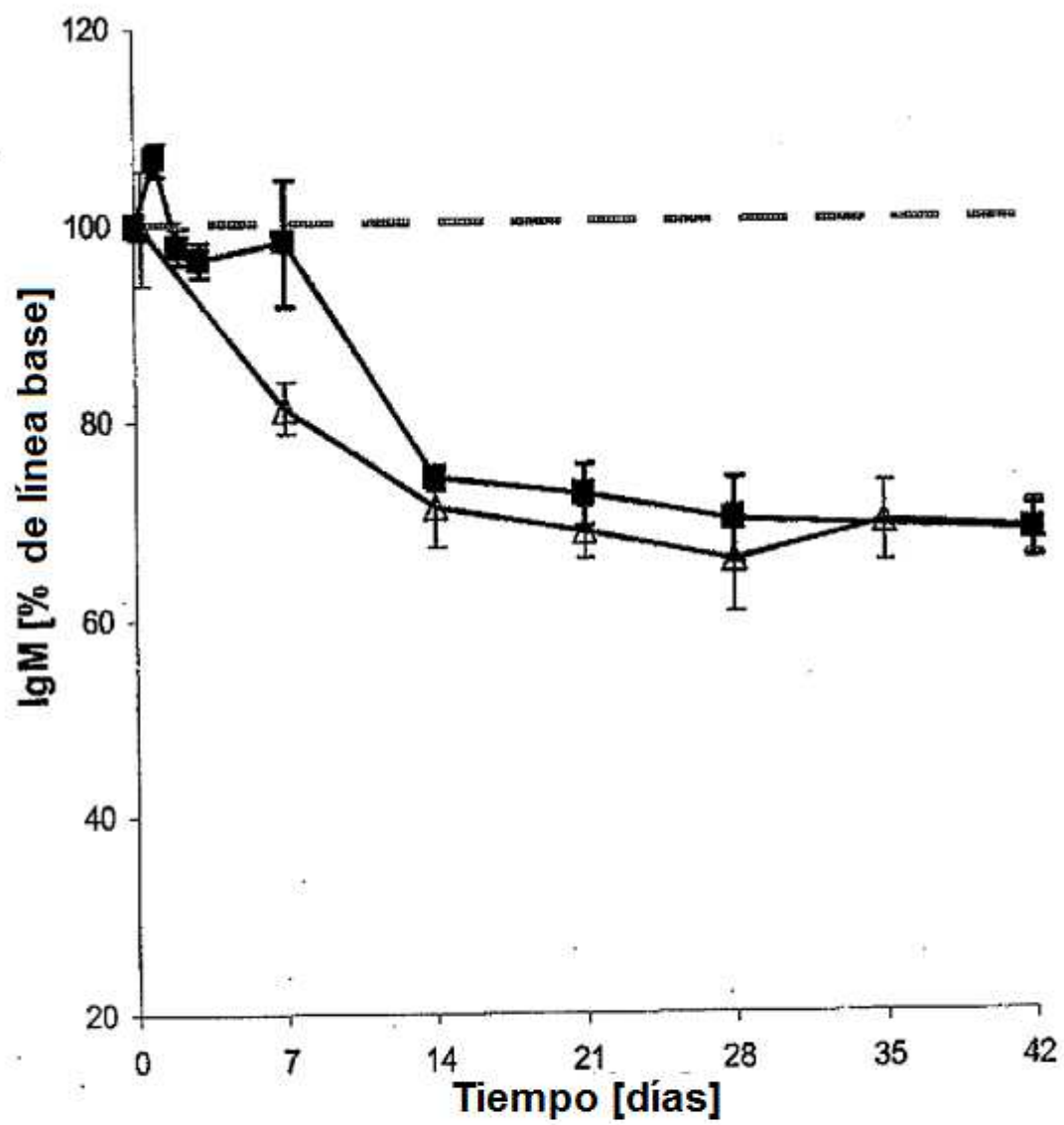


Figura 5

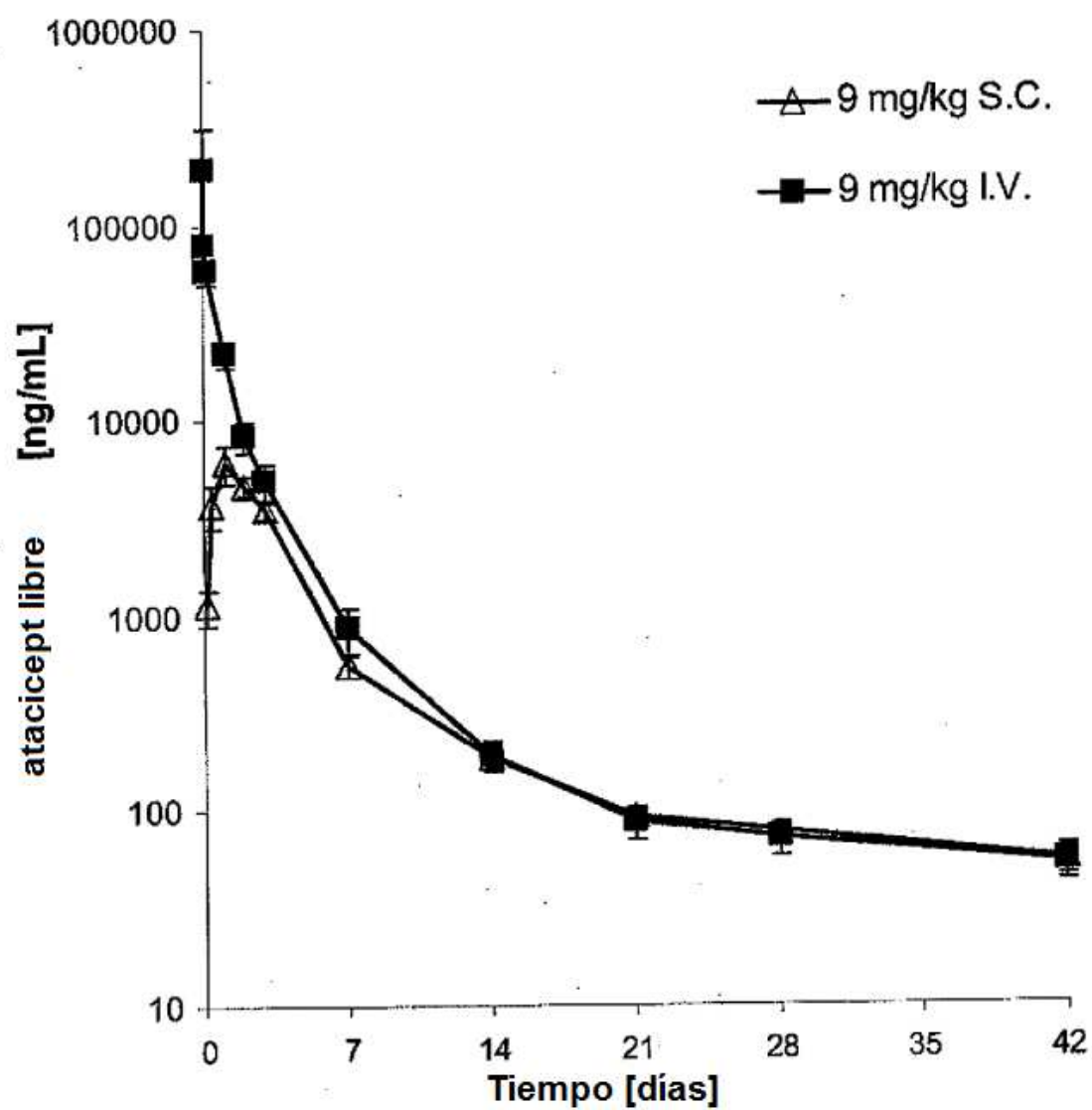


Figura 6

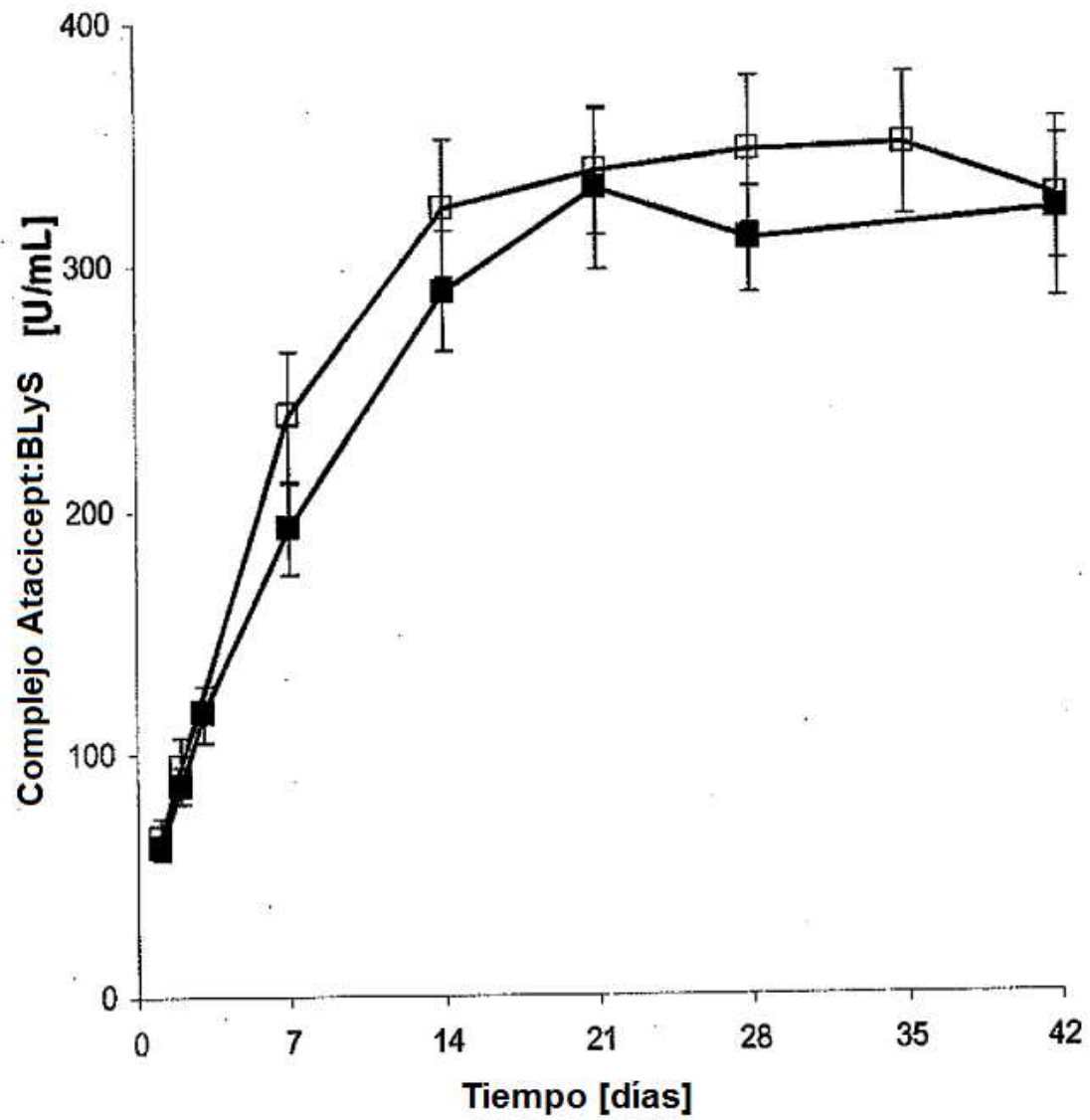


Figura 7

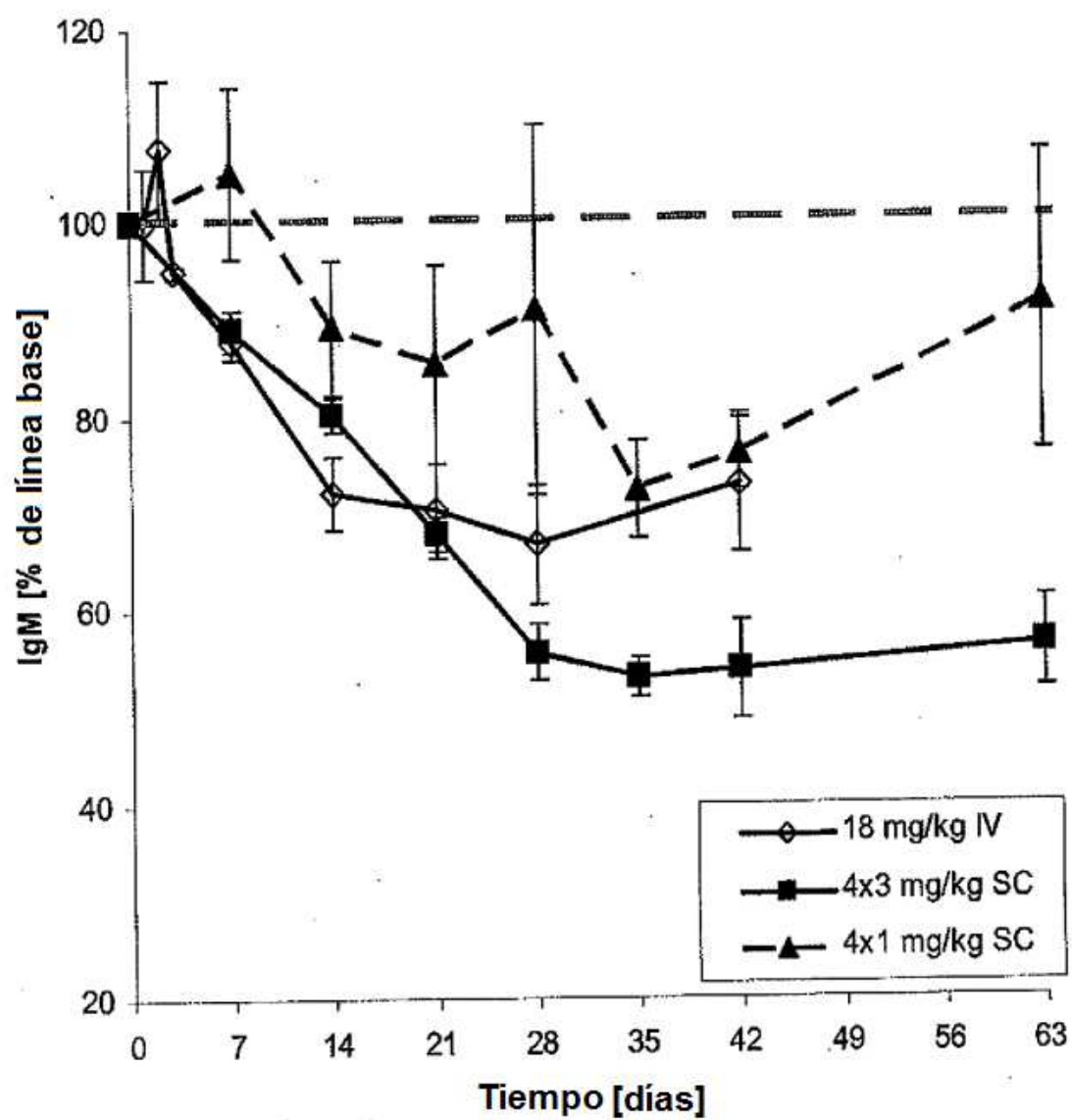
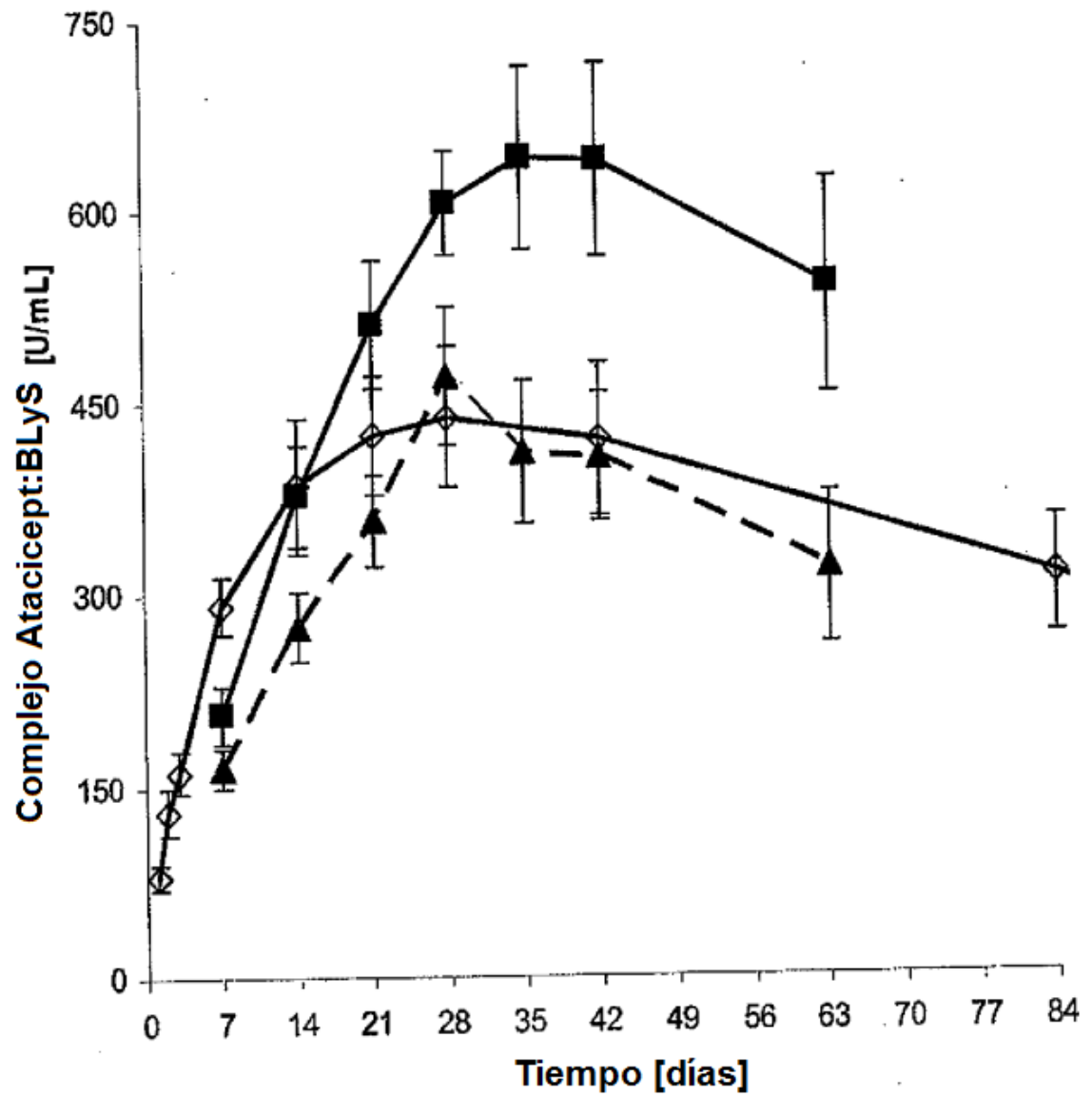


Figura 8

**Figura 9**

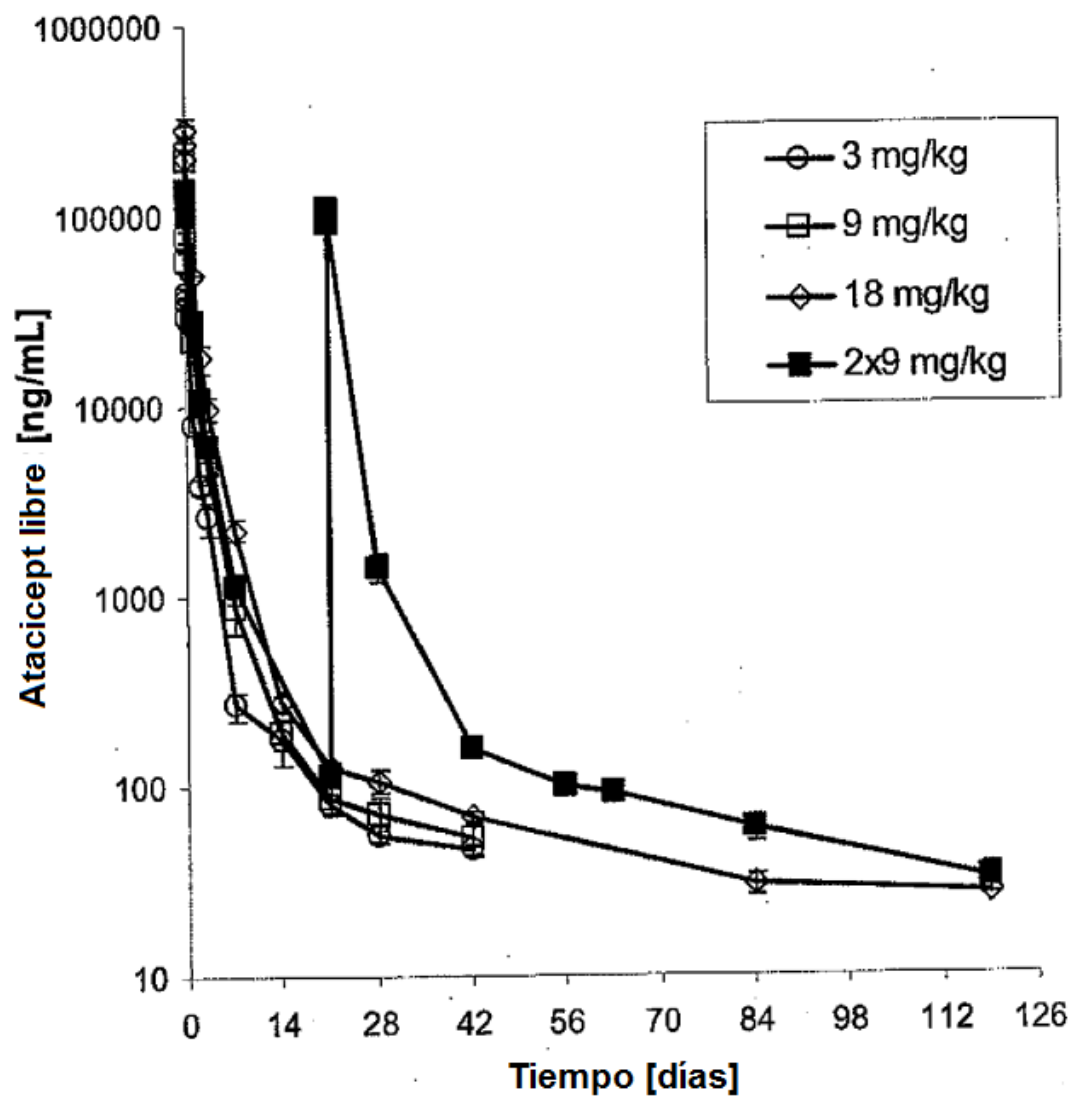


Figura 10

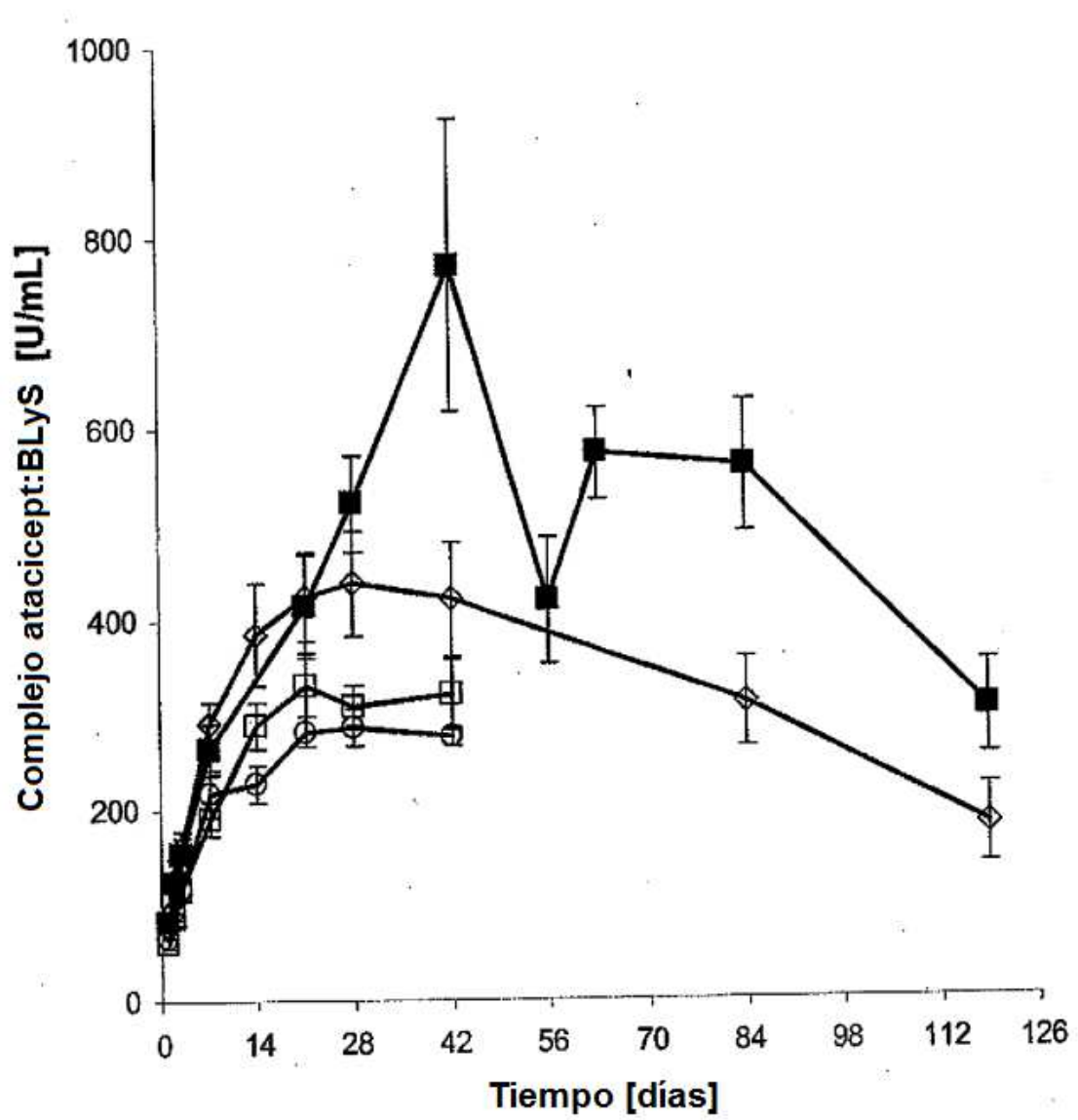


Figura 11

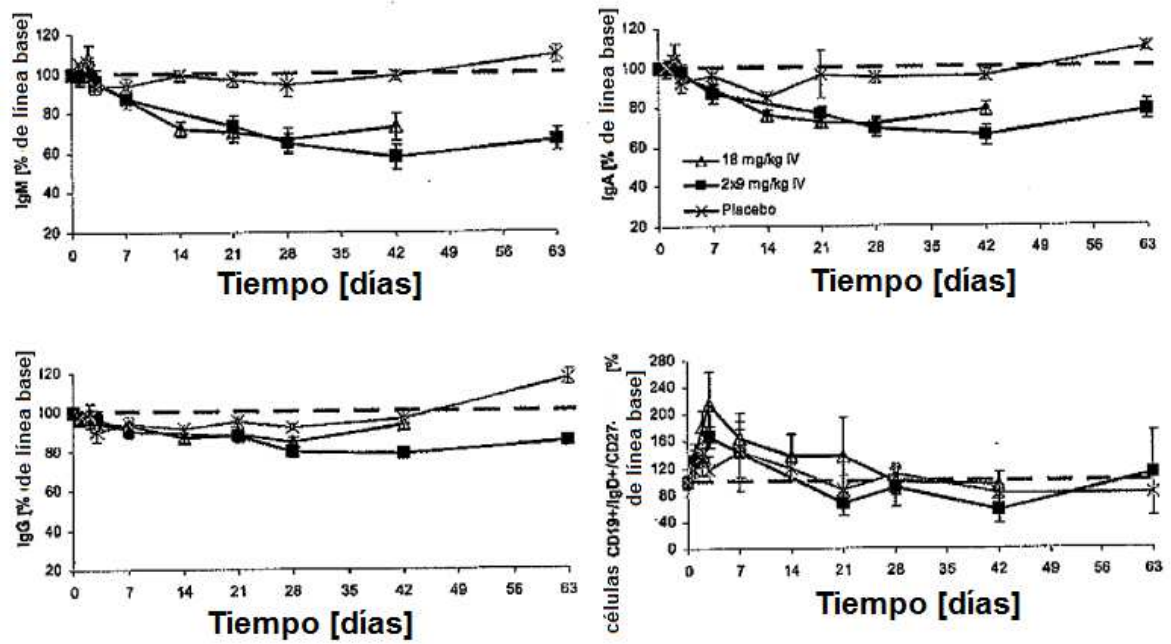


Figura 12

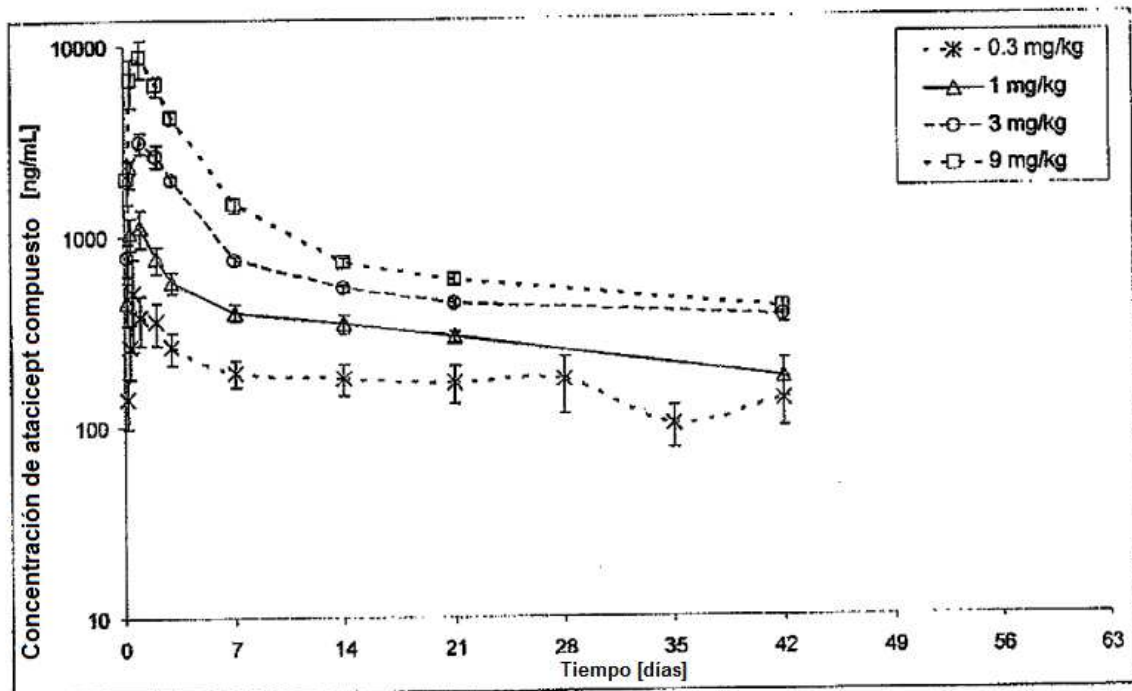


Figura 13A

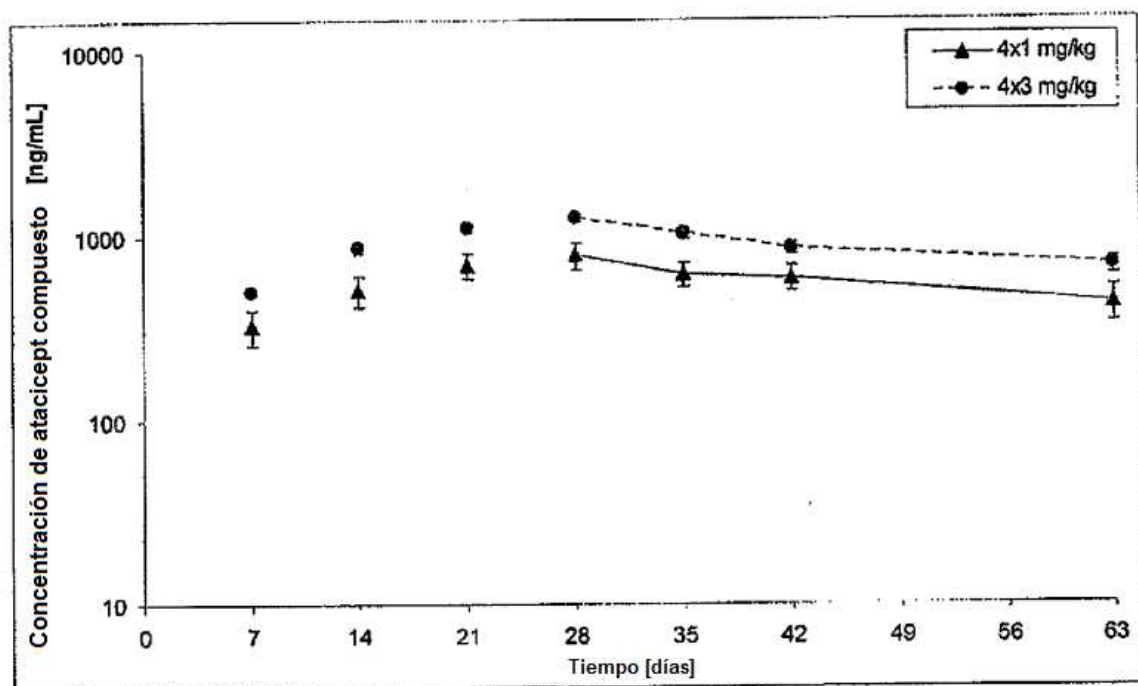


Figura 13B

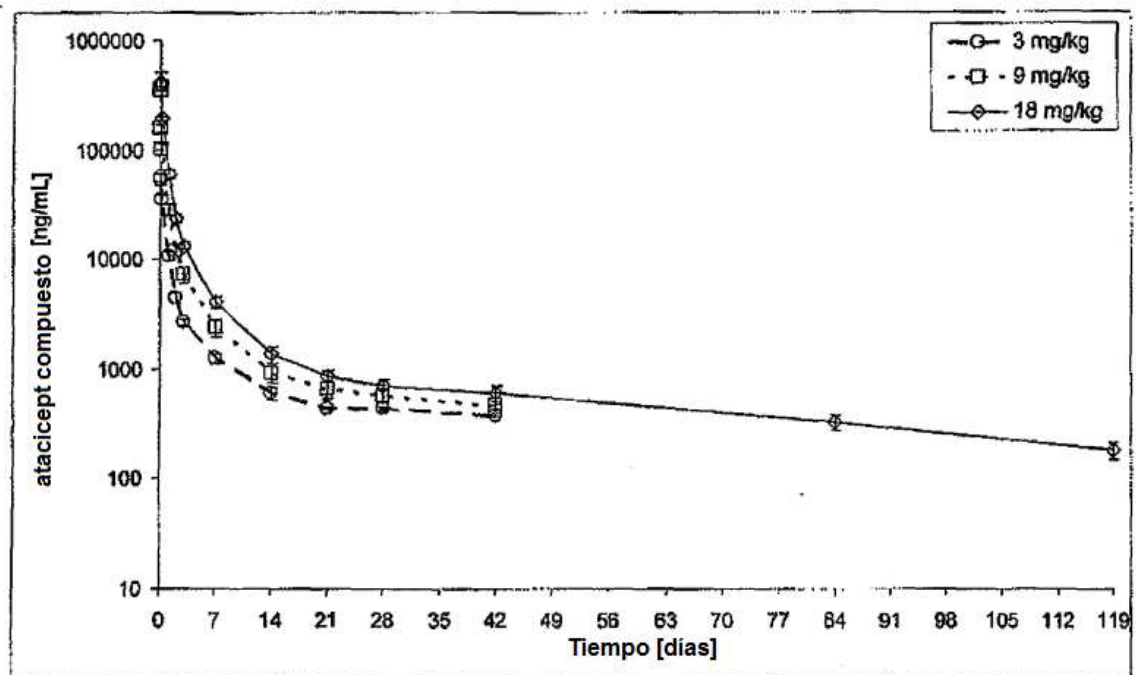


Figura 14A

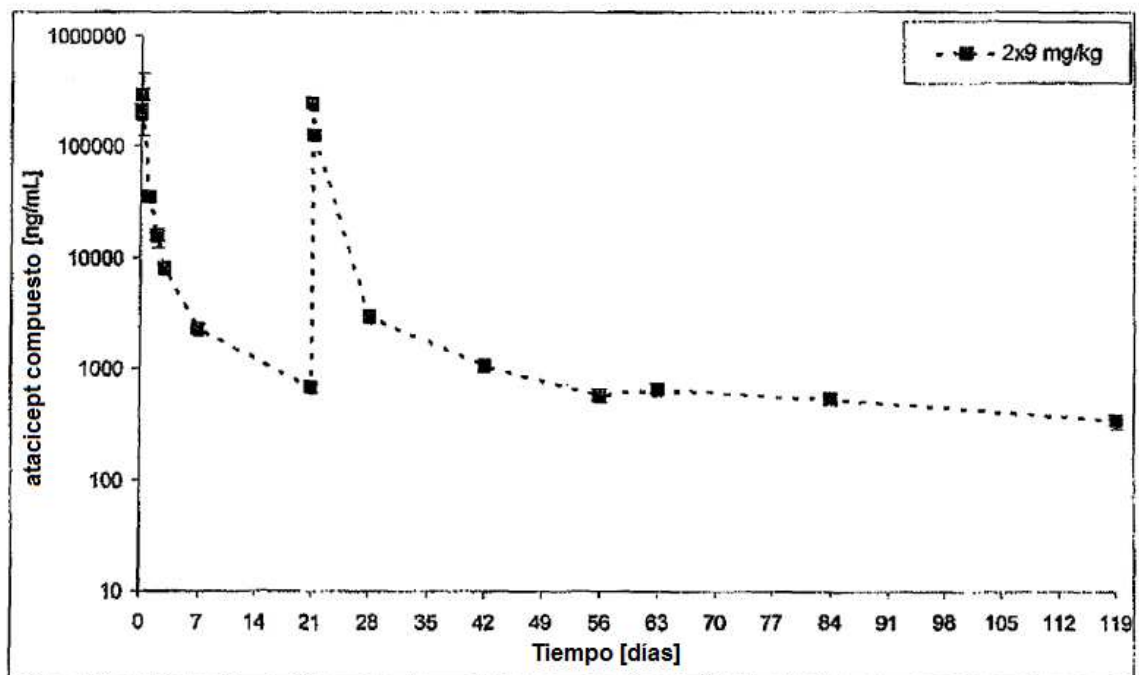


Figura 14B

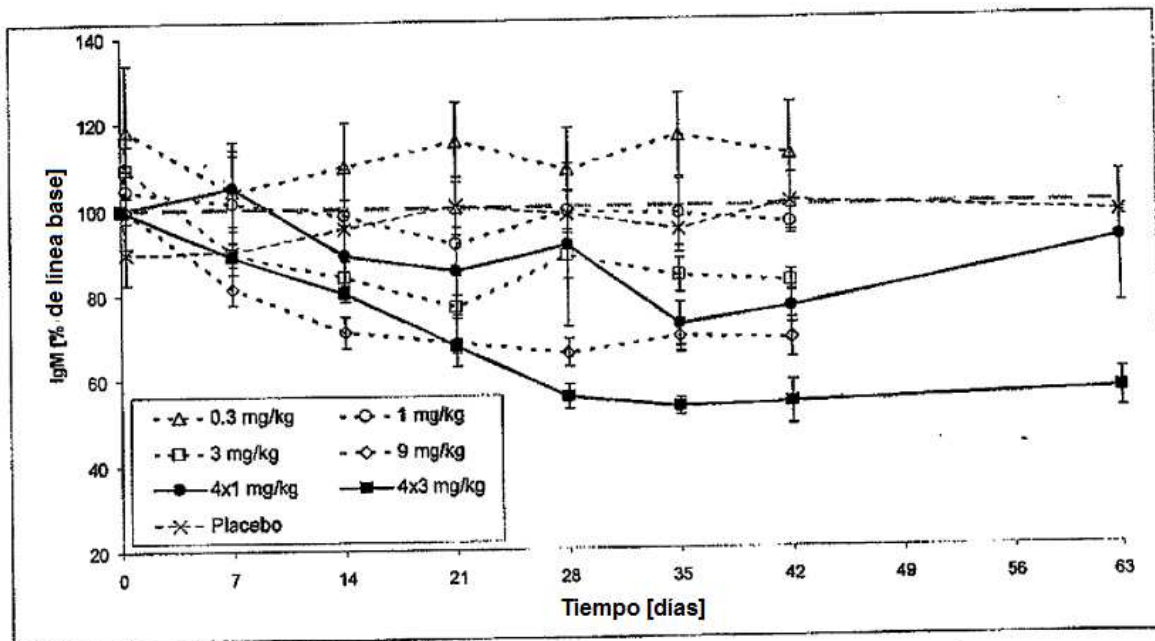


Figura 15A

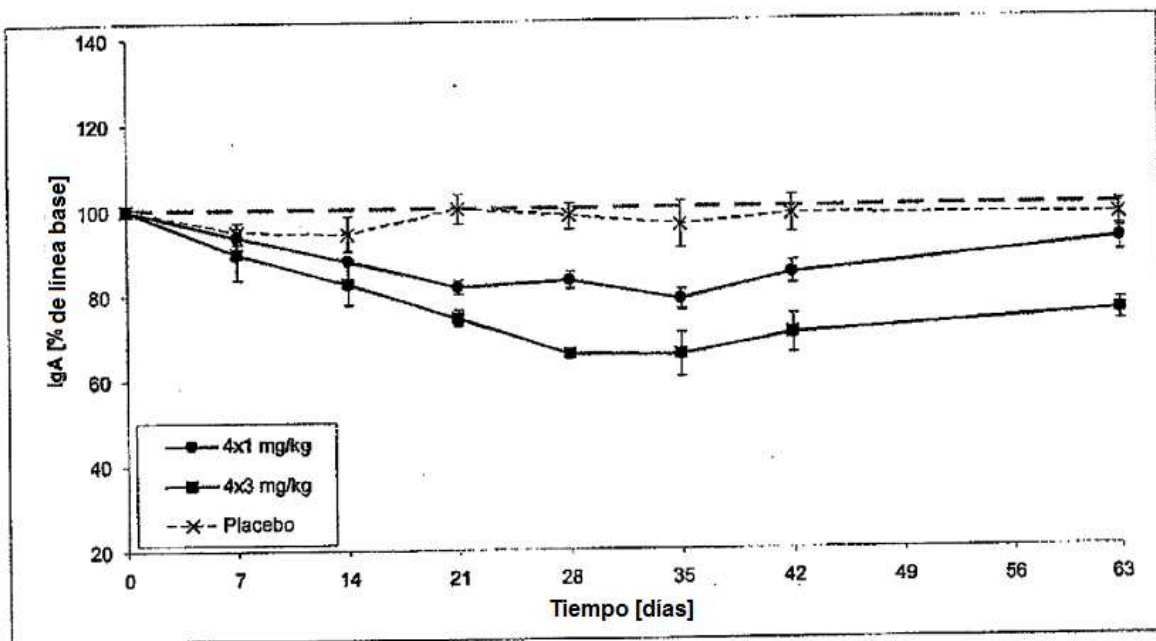


Figura 15B

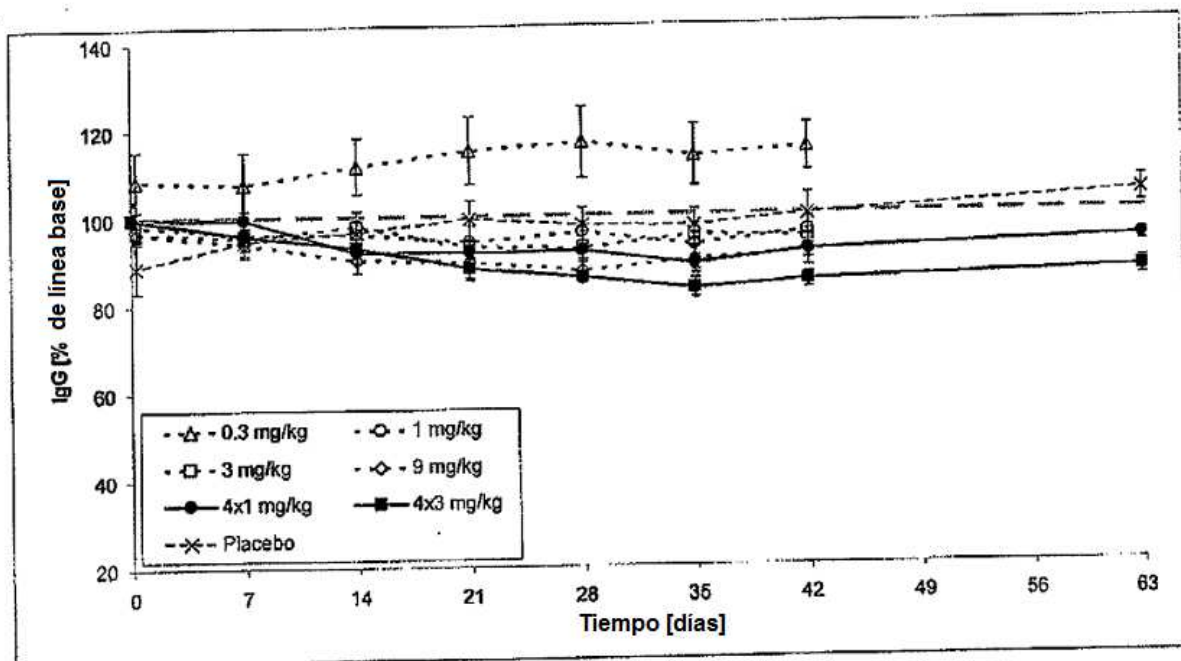


Figura 15C

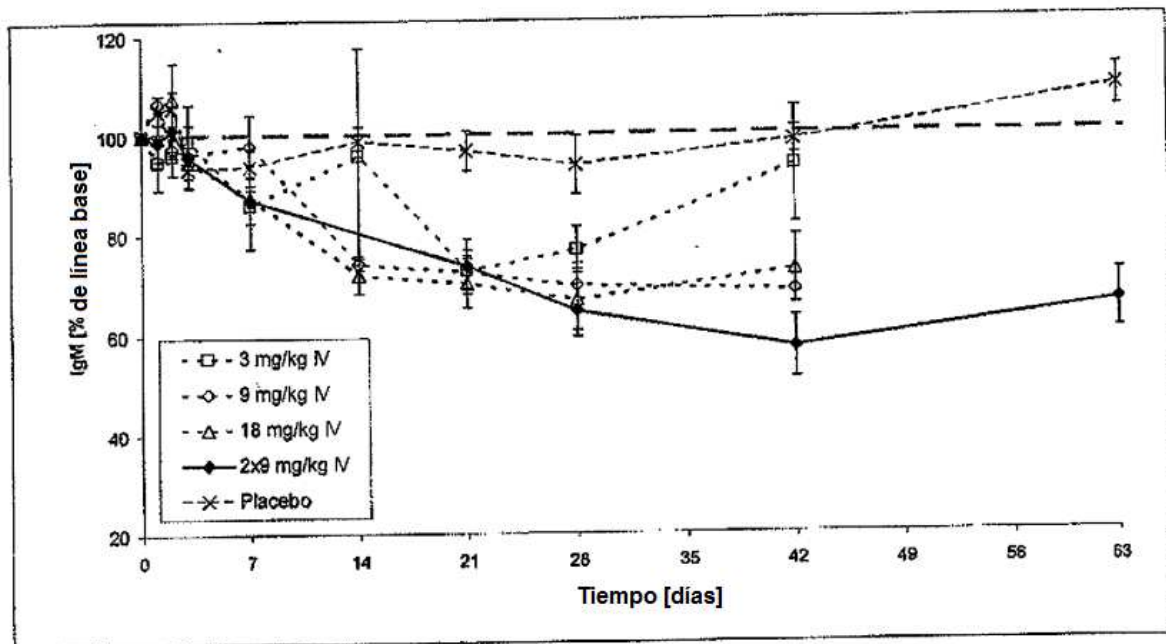


Figura 16A

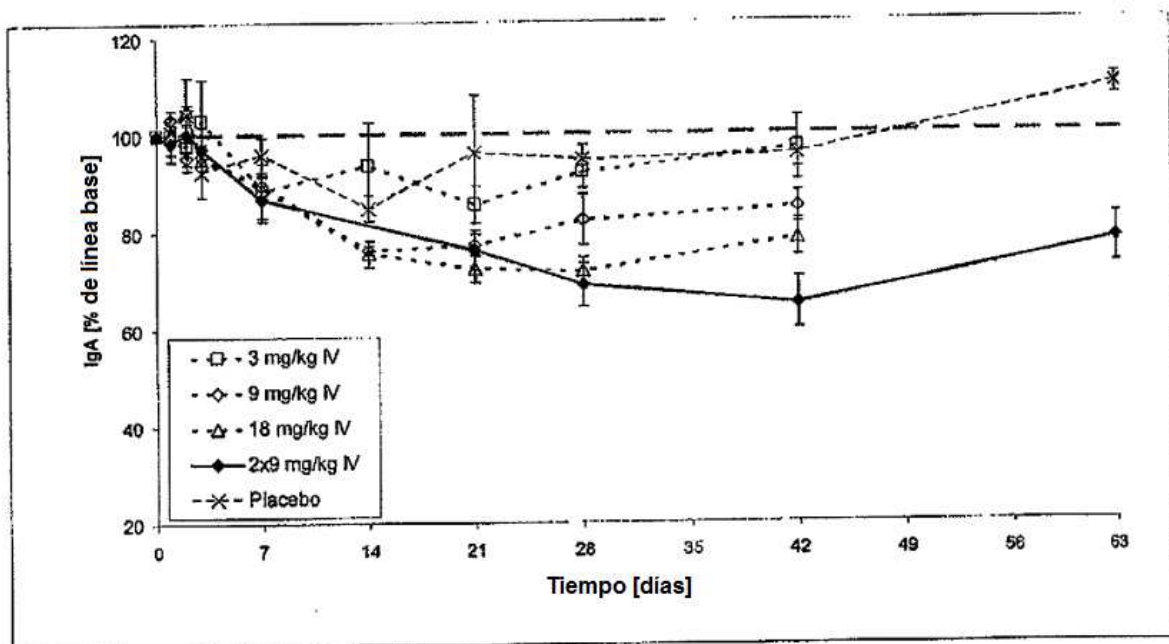


Figura 16B

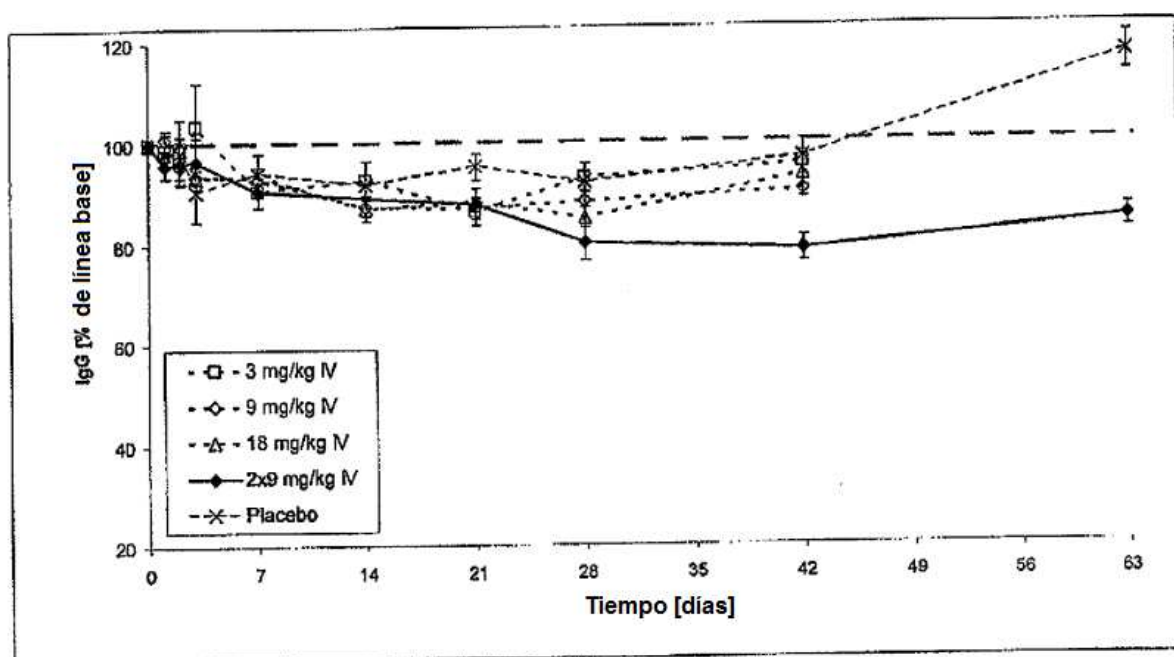


Figura 16C

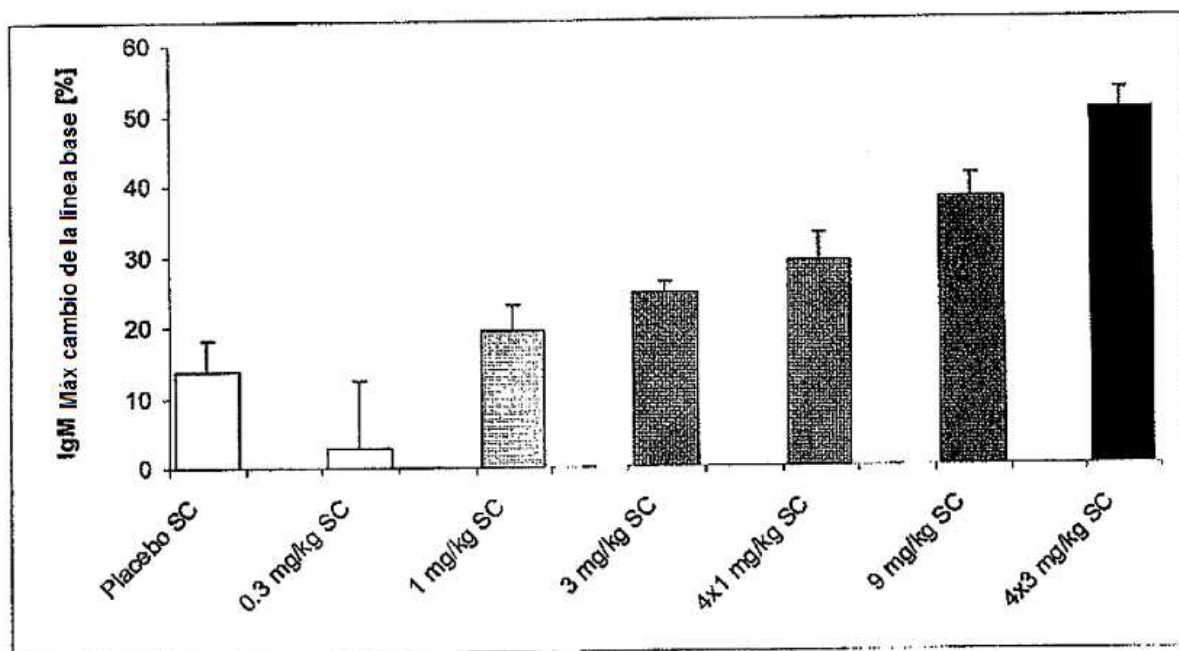


Figura 17A

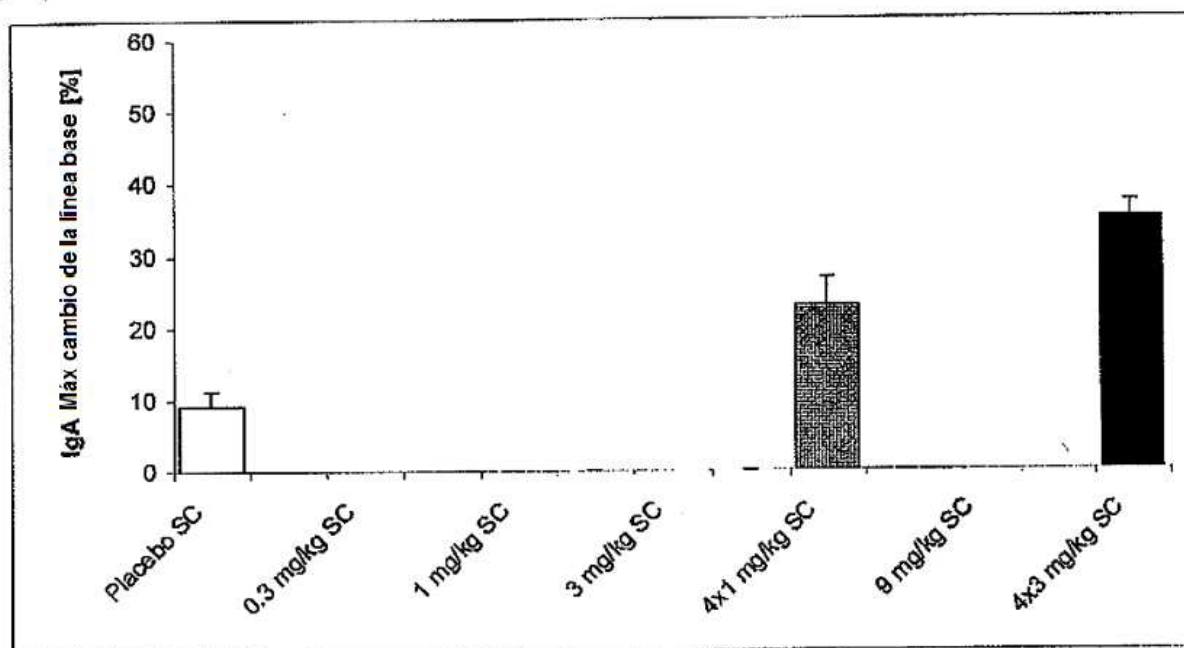


Figura 17B

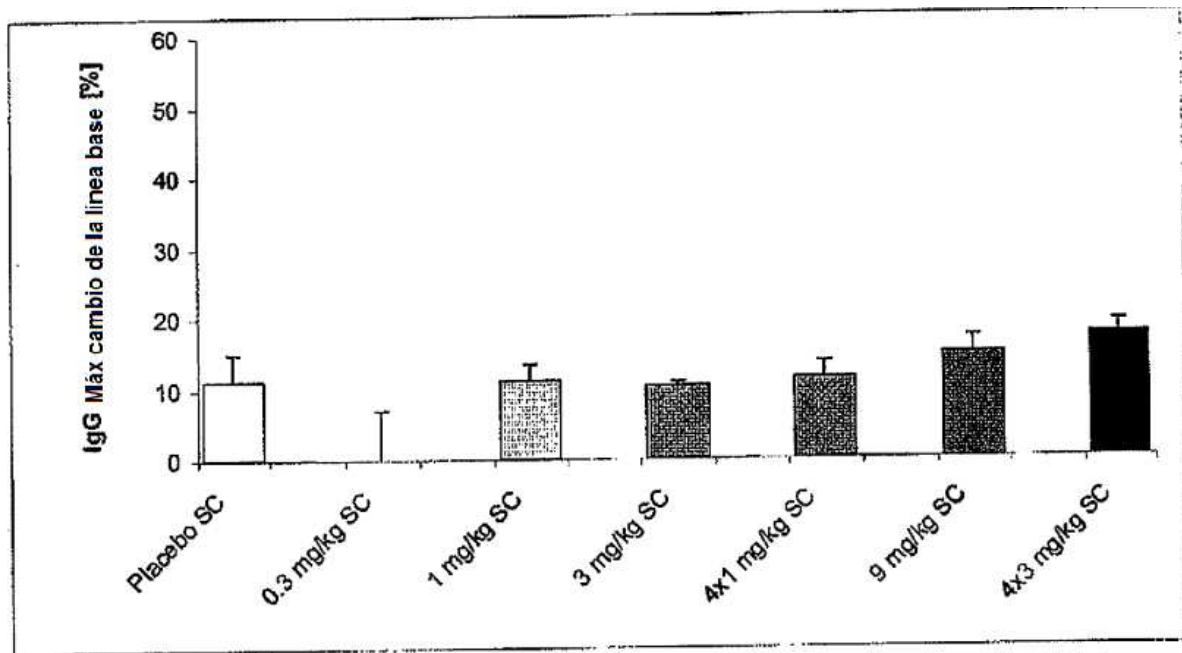


Figura 17C

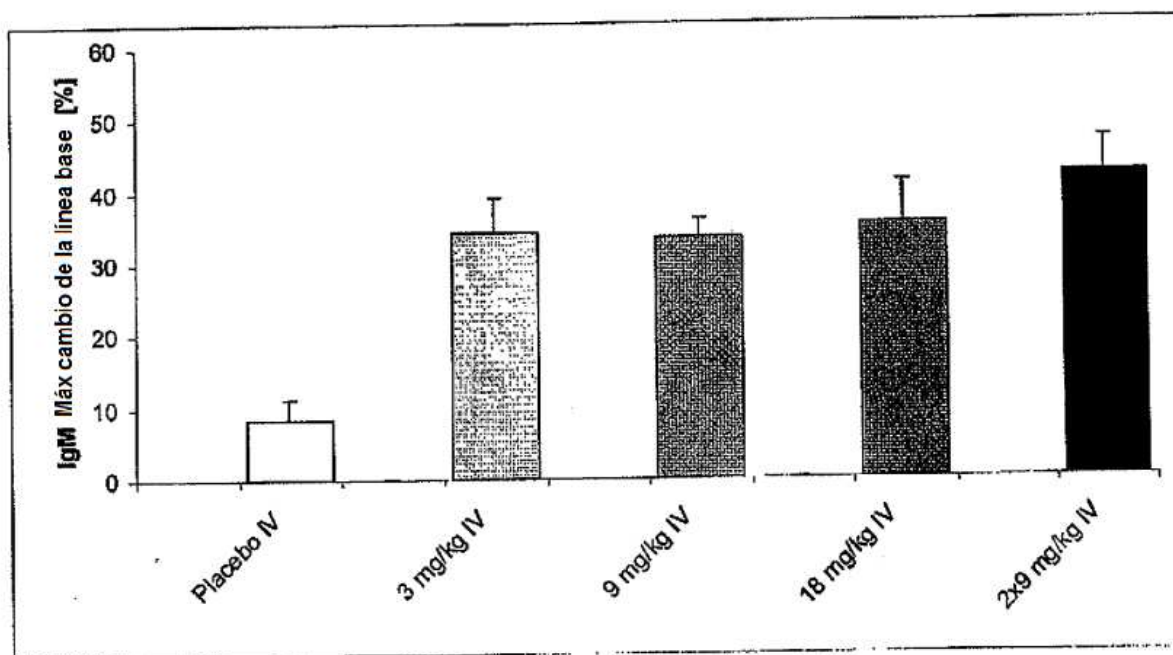


Figura 18A

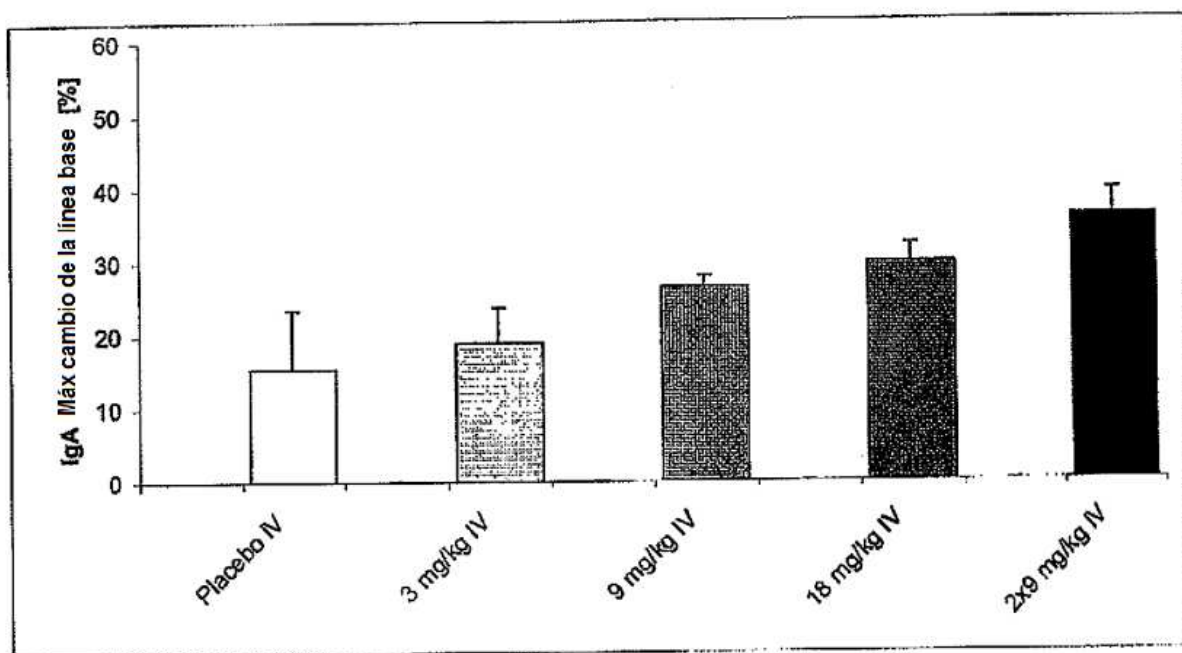


Figura 18B

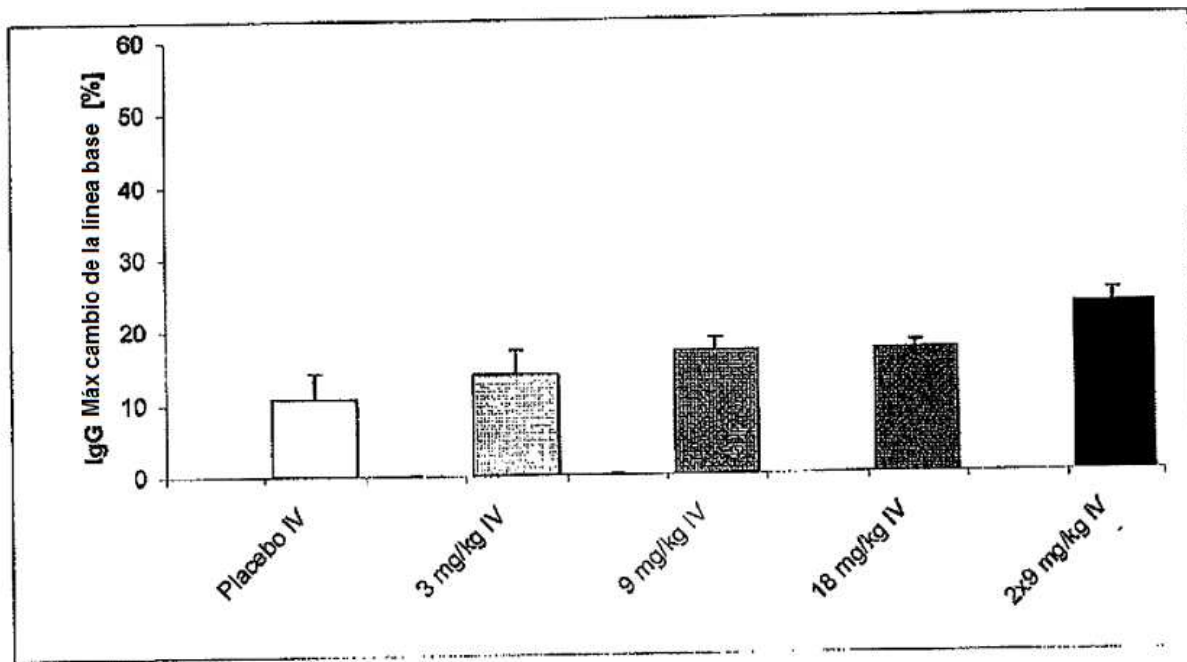


Figura 18C

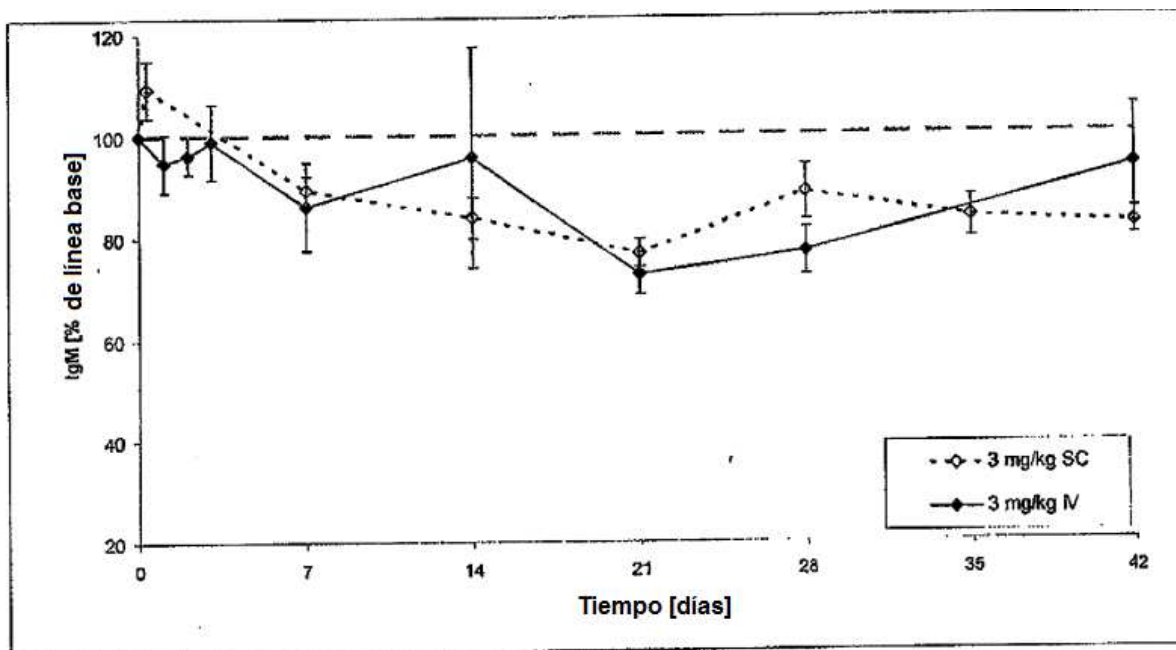


Figura 19A

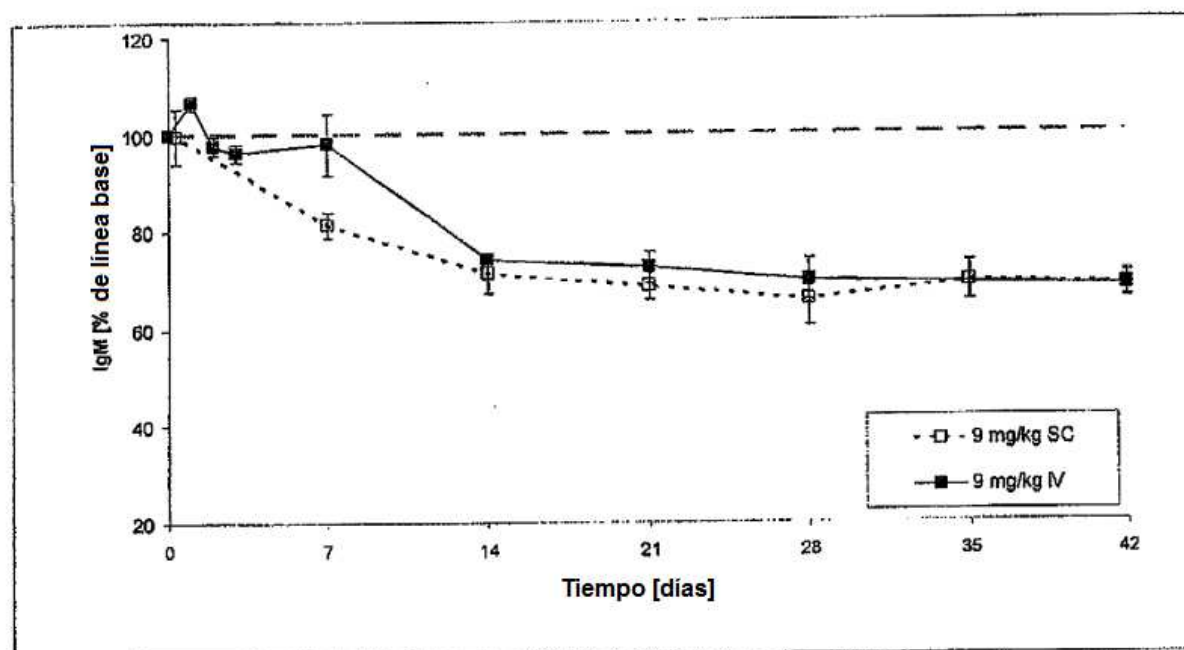


Figura 19B

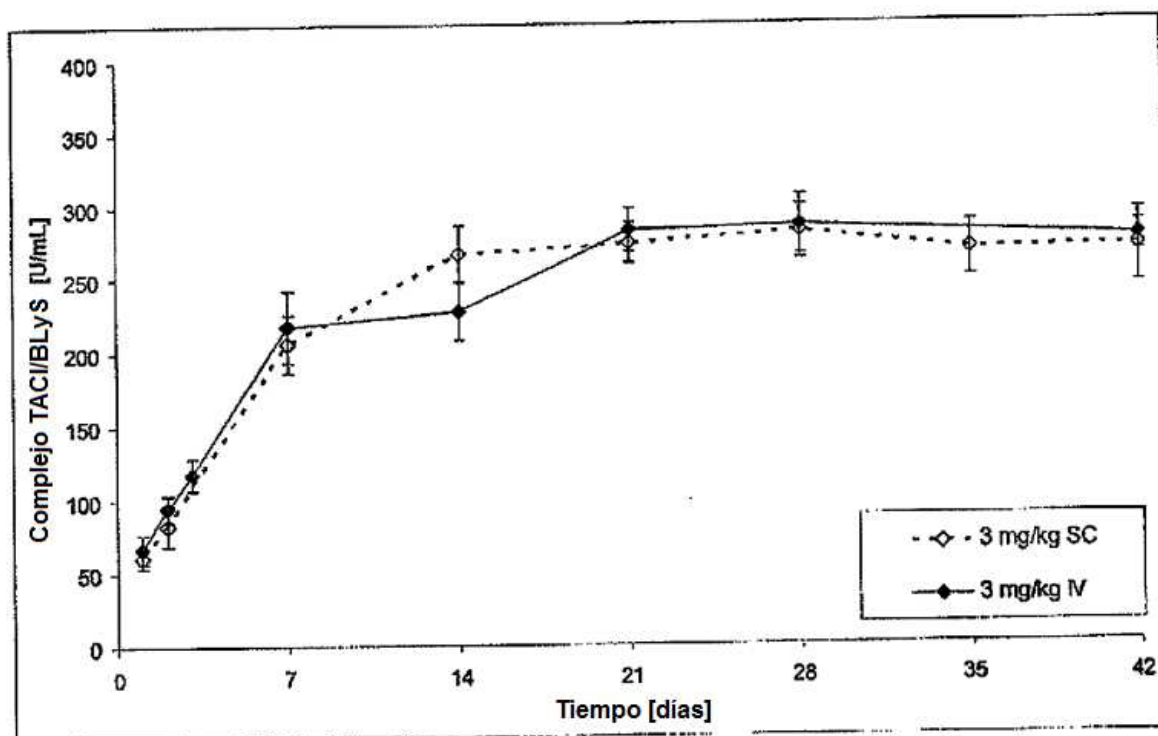


Figura 20A

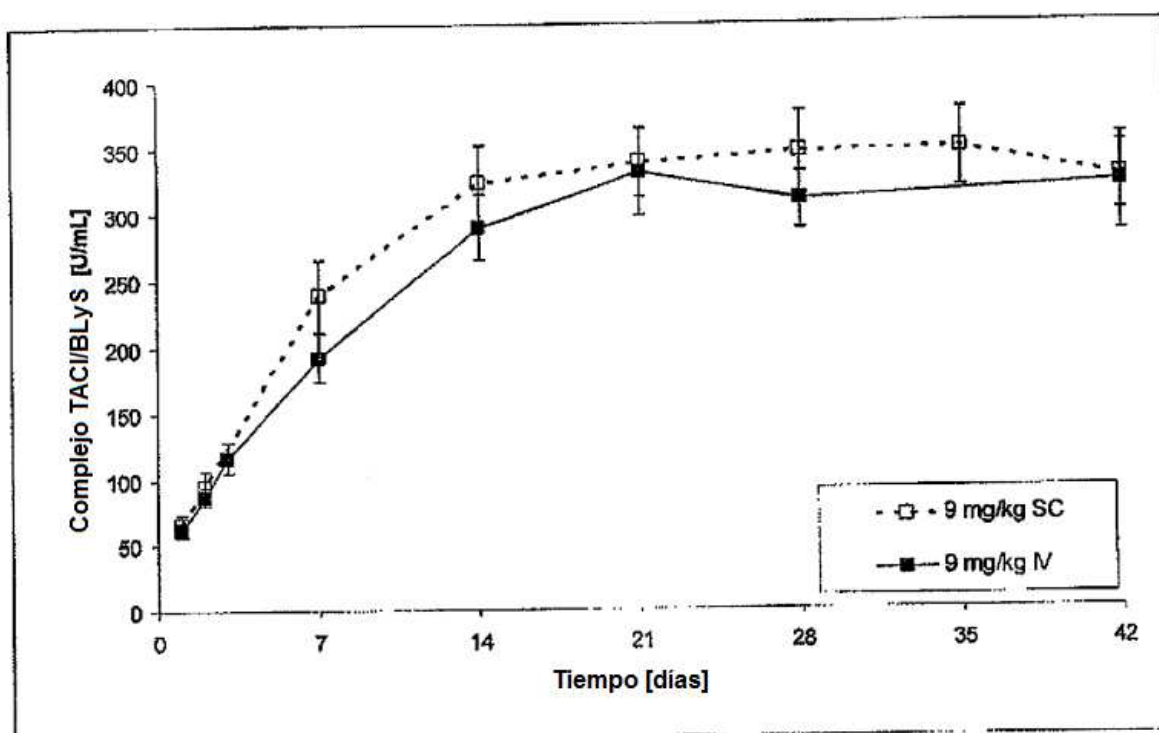


Figura 20B