

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 679**

51 Int. Cl.:

G01N 33/574 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.05.2015 PCT/IB2015/053705**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.12.2015 WO15181683**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2015 E 15727072 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2018 EP 3149480**

54 Título: **Estratificación del riesgo de pacientes con leucemia linfoblástica aguda de precursores B**

30 Prioridad:

30.05.2014 US 201462005560 P

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

05.06.2019

73 Titular/es:

AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH (50.0%)

Staffelseestrasse 2

81477 München, DE y

AMGEN INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

ZUGMAIER, GERHARD;

KUFER, PETER y

ALEKAR, SHILPA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 715 679 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

Estratificación del riesgo de pacientes con leucemia linfoblástica aguda de precursores B

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B, donde dichos sujetos están destinados a una terapia que comprende la redirección de células T contra células diana, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR por sus siglas en inglés), tal como se define en las reivindicaciones. La estratificación del riesgo se basa en la determinación de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto y/o en la determinación del número de células blásticas por 1 µl en una muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR) de dicho sujeto. De acuerdo con la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR, la estratificación del riesgo permite una clasificación de los sujetos que padecen LLA de precursores B en categorías de sujetos que pueden estar o no estar en riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa después de la administración de un dominio de unión a CD3. De acuerdo con la categoría, se puede tratar a dichos sujetos adecuadamente, mientras que el riesgo de una posible reacción neurológica adversa puede reducirse o incluso evitarse. La presente invención se refiere, además, a un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR) para uso en un procedimiento para tratar la LLA de precursores B en un sujeto tal como se define en las reivindicaciones. La presente invención también se refiere al uso de una muestra de médula ósea de un sujeto del que se sospecha o tiene LLA de precursores B, el uso de una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B, el uso de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto del que sospecha que tiene o que tiene LLA de precursores B, y el uso del número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa tal como se define en las reivindicaciones. La presente invención también se refiere a un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que padece LLA de precursores B tal como se define en las reivindicaciones.

Se citan varios documentos a lo largo del texto de esta memoria descriptiva. Nada en el presente documento debe interpretarse como una admisión de que la invención no tiene derecho a anticipar tal descripción en virtud de invención anterior.

Antecedentes de la invención

Las terapias contra el cáncer basadas en anticuerpos requieren un antígeno diana firmemente unido a la superficie de las células cancerosas para estar activas. Al unirse a la diana de la superficie, el anticuerpo puede enviar directamente una señal mortal a la célula cancerosa o indirectamente, por ejemplo, reclutando una célula T citotóxica, si es un anticuerpo biespecífico. En un escenario de tratamiento ideal, un antígeno diana está presente en abundancia y es accesible en todas las células cancerosas y está ausente, protegido o es mucho menos abundante en las células normales. Como alternativa, un antígeno diana puede restringirse a un determinado linaje de células normales y células cancerosas derivadas del mismo, donde el agotamiento de las células normales positivas al antígeno diana es tolerable, por ejemplo, debido a la recuperación de células madre negativas para el antígeno diana. Estas situaciones proporcionan la base para una ventana terapéutica en la que una cantidad definida de la terapéutica basada en anticuerpos afecta eficazmente a las células cancerosas pero evita las células normales.

Aunque los anticuerpos son un medio eficaz para tratar muchos trastornos, en particular el cáncer, su administración no está necesariamente exenta de efectos secundarios. Los efectos adversos pueden causar un cambio reversible o irreversible en el estado de salud de un paciente. Dado que los efectos adversos pueden ser dañinos y no deseados, es altamente deseable evitarlos. Sin embargo, aunque se sabe que un medicamento puede causar efectos adversos, no se puede evitar o se acepta su prescripción y administración, ya que el medicamento tiene un efecto terapéutico beneficioso excepcional o incluso puede salvar vidas.

En los ensayos clínicos, se puede hacer una distinción general entre los efectos adversos (EA) y los efectos adversos graves (EAG). Específicamente, los efectos adversos se pueden clasificar en 5 grados de acuerdo con los Criterios Comunes de Terminología para Eventos Adversos (CTCAE por sus siglas en inglés) versión 4. El grado 1 se relaciona con un EA leve, un grado 2 con un EA moderado, un grado 3 con un EA grave, un grado 4 con un EA potencialmente mortal o incapacitante, mientras que el grado 5 significa muerte relacionada con un EA.

Un efecto adverso que se observa en la terapia con anticuerpos es la aparición de efectos secundarios relacionados con la infusión, como el síndrome de liberación de citoquinas ("SLC"). Otros efectos secundarios adversos que se describen como asociados con el SLC son fatiga, vómitos, taquicardia, hipertensión, dolor de espalda, pero también reacciones neurológicas del sistema nervioso central (reacciones del SNC), como convulsiones, encefalopatía, edema cerebral, meningitis aséptica y cefalea.

La liberación de citoquinas y las reacciones neurológicas no solo se han observado con anticuerpos monoclonales que se unen al receptor de células T, sino también con un anticuerpo biespecífico CD19xCD3 de unión a la parte CD3 del receptor de células T (llamado Blinatumomab (MT103) o AMG 103).

5 Blinatumomab es un anticuerpo CD19xCD3 recombinante biespecífico de cadena sencilla, dirigido a tumores malignos de células B, que se une a CD19 en la superficie de casi todas las células B y células B tumorales, y de forma concomitante puede activar una célula T, lo que hace que la célula T destruya la célula B o célula B tumoral diana. Blinatumomab consiste en cuatro dominios variables de inmunoglobulina ensamblados en una sola cadena polipeptídica. Dos de los dominios variables forman el sitio de unión para CD19, un antígeno de superficie celular expresado en la mayoría de las células B y células B tumorales. Los otros dos dominios variables forman el sitio de unión para el complejo CD3 en las células T. Blinatumomab está diseñado para dirigir las células T citotóxicas del organismo, que destruyen células, contra las células tumorales, y representa un nuevo enfoque terapéutico para la terapia del cáncer. Blinatumomab se encuentra actualmente en ensayos clínicos.

10 15 Tal como se describe, por ejemplo, en el documento WO 99/54440, se han observado efectos adversos en un estudio anterior realizado con Blinatumomab aplicado en infusiones en bolo repetidas a un paciente con leucemia linfática crónica derivada de células B (LLC-B). Para intentar controlar mejor estos efectos secundarios no deseados, se cambió el modo de administración del anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3, ya que se cambió de infusión en bolo a una administración intravenosa continua de dicho anticuerpo durante un período de tiempo más prolongado.

20 Si bien los medios y procedimientos farmacéuticos que permiten una activación más gradual de las poblaciones de células T (véase el documento WO 2007/068354) ya ayudaron a evitar efectos secundarios adversos significativos en pacientes tratados con el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3, desafortunadamente las reacciones neurológicas no se pueden prevenir con estas medidas, en particular, en los casos en que se hayan administrado dosis de más de 5 a 10 microgramos por metro cuadrado por día (es decir, 24 h) del anticuerpo.

El documento WO 2011/051307 describe que aquellos pacientes a los que se les administró un anticuerpo biespecífico CD19xCD3 se encontraron con eventos en el SNC si tenían una relación de células B: T de aproximadamente 1:5 o inferior. En consecuencia, el documento WO 2011/051307 proporciona regímenes de dosificación adecuados para reducir los posibles eventos del SNC. El documento WO 2012/146394 estableció que un recuento total de células B de menos de aproximadamente 50 células B por microlitro de sangre periférica es un indicador del riesgo de posibles eventos adversos neurológicos y, por lo tanto, proporciona regímenes de dosificación adecuados que ayudan a reducir o incluso a evitar dichos eventos adversos.

30 35 Sin embargo, aunque una relación baja de células B: células T y/o un número bajo de células B en sangre periférica se ha establecido como un perfil de riesgo asociado con un mayor riesgo de eventos adversos relacionados con el SNC cuando los sujetos son tratados con un dominio de unión a CD3 como un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3, por ejemplo, blinatumomab, en la lucha contra el linfoma o la leucemia, dicho perfil de riesgo aún no resultó ser no variable cuando se trata a sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA). Sin embargo, "no variable" no significa que el perfil de riesgo hasta ahora establecido que se describe en el documento WO 2011/051307 o en el documento WO 2012/146394 para los sujetos que padecen linfoma no es aplicable a los sujetos que padecen LLA, de hecho, es aplicable, pero en ensayos clínicos resultó que este perfil de riesgo se puede mejorar para incluso excluir un posible evento adverso, en particular, una reacción neurológica adversa.

40 45 Por lo tanto, el problema técnico subyacente a la presente invención es proporcionar medios y procedimientos para tratar a los sujetos que padecen LLA con un dominio de unión CD3 reduciendo o incluso evitando a la vez el riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

La presente invención aborda esta necesidad y, por lo tanto, proporciona procedimientos para estratificar el riesgo de sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B y que están destinados a una terapia, una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana como se define en las reivindicaciones, así como los usos que aplican un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR) para el tratamiento de la LLA de precursores B en un sujeto que preferentemente ha sido estratificado por riesgo de acuerdo con la enseñanza de la presente invención, así como las realizaciones correspondientes a dichos procedimientos y usos.

Como aspectos adicionales, la presente invención proporciona el uso de una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa tal como se define en las reivindicaciones, el uso de una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa tal como se define en las reivindicaciones, el uso de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa tal como se define en las reivindicaciones,

el uso del número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que LLA de precursores B para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa tal como se define en las reivindicaciones,

un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando se le somete a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto tal como se define en las reivindicaciones, y

10 un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando se le somete a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto tal como se define en las reivindicaciones,

15 así como las realizaciones relativas a dichos usos y procedimientos. Estos aspectos y realizaciones se caracterizan y se describen en el presente documento y se reflejan en las reivindicaciones.

Resumen de la invención

20 En un primer aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para estratificar el riesgo de un sujeto que padece leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B, dicho sujeto está destinado a una terapia que comprende la redirección de células T contra células diana, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende

(a) determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; y/o determinar el número de células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto,

(b) estratificar el riesgo de dicho sujeto en una de las siguientes categorías:

30 (i) sujetos que tienen una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;

(ii) sujetos con 5 células blásticas o menos por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;

35 (iii) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, mientras que dichos sujetos tienen 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;

(iv) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;

(v) sujetos con más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos; o

40 (vii) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, mientras que dichos sujetos que tienen más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos, donde la estratificación del riesgo permite predecir si un sujeto desarrollará o no una posible reacción neurológica adversa o la mitigación de una posible reacción neurológica adversa.

45 En una realización del procedimiento para estratificar sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores de B,

(i) una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

50 (ii) un número de 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

55 (iii) una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

60 (iv) una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

(v) un número de más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana; o

65 (vi) una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de más de 5 células

blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra las células diana.

5 En una realización, se prevé que los sujetos de las categorías (v) y (vi) estratificados por riesgo con el procedimiento de estratificación por riesgo de la presente invención deben someterse a quimioterapia intratecal antes del tratamiento con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana.

En otra realización, se prevé que los sujetos de la categoría (i) estratificados por riesgo con el procedimiento de
10 estratificación por riesgo de la presente invención deben someterse a quimioterapia y/o un tratamiento con cortisona antes del tratamiento con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, si dichos sujetos tienen una cantidad de células blásticas superior al 50 %.

En una realización, la estratificación del riesgo permite predecir si un sujeto desarrollará o no una posible reacción
15 neurológica adversa.

En otra realización, la estratificación del riesgo permite la mitigación de una posible reacción neurológica adversa.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla que
20 comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada por ingeniería genética que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR) para uso en un procedimiento para tratar la LLA de precursores B en un sujeto, dicho sujeto es

(a) un sujeto con más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto,
25 (b) un sujeto que tiene una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; o
(c) un sujeto que tiene una cantidad inferior al 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto y que tiene 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto.

30 De acuerdo con los procedimientos y usos de la presente invención, una reacción neurológica es una o más seleccionadas de entre el grupo que consiste en: confusión, ataxia, desorientación, disfasia, afasia, deficiencia del habla, síntomas cerebelosos, temblor, apraxia, convulsiones, convulsiones de tipo gran mal, parálisis y trastorno del equilibrio.

35 En una realización preferida del segundo aspecto, dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla es un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3. El anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3 preferido es blinatumomab (AMG 103).

En una realización del segundo aspecto, el sujeto es un ser humano.

40 En un aspecto adicional, la presente invención se refiere al uso de una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una
45 célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

50 En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar la cantidad de células blásticas en una muestra
55 de médula ósea de un sujeto, donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

En otro aspecto adicional, la presente invención se refiere al uso de la cantidad de células blásticas en una muestra
60 de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de
65 médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

En otro aspecto más, la presente invención comprende el uso de una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde 5 o menos células blásticas por 1 µl de una muestra de LCR de dicho sujeto son indicativos de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

- 10 En otro aspecto, la presente invención prevé el uso de un número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde un número de 5 o
 15 menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

En otro aspecto más, la presente invención se refiere a un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando está
 20 sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar el número de células blásticas en una muestra LCR de un sujeto, donde un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

25

Descripción detallada de la invención

Los autores de la presente invención observaron que la presencia de células diana, que son combatidas mediante una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, donde las células T pueden ser
 30 redireccionadas, por ejemplo, mediante un dominio de unión CD3 o mediante un receptor de antígeno quimérico (CAR), en el sistema nervioso central (SNC), así como la falta de células B periféricas, podría dar lugar a una reacción neurológica adversa en un sujeto que padece LLA de precursores B y que es tratado mediante dicha terapia. Es decir, sin restringirse a consideraciones teóricas, una terapia que incluya redireccionamiento de células T contra células diana de la leucemia linfoblástica podría conducir a posibles reacciones neurológicas adversas, ya
 35 que las células T redireccionadas se adhieren al endotelio de los vasos sanguíneos, activan el endotelio, comienzan a extravasarse y migran incluso al SNC. Se supone que las células endoteliales activadas atraen a otros leucocitos de la sangre periférica, como los monocitos, que a su vez pueden causar neuroinflamación transitoria y alteración de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo. Se supone que la alteración de la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo causada por el estrés endotelial debido a la adhesión de las células T redireccionadas y la activación de las células
 40 endoteliales provoca una fuga en la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo (LCR) y, por lo tanto, permite la difusión y la migración de las células efectoras, por ejemplo, las células T comprometidas por un dominio de unión CD3 o las células T modificadas por CAR (véase, p.ej., Grupp y col. (2013), N. Engl. J. Med. 368 (16), pp. 1509-1518) y/o la difusión de un dominio de unión a CD3 al LCR. Se sabe que los sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda tienen células leucémicas tales como las células blásticas en el LCR. (véase, por ejemplo, Buerger y col. (2003),
 45 Journal of Clinical Oncology 21, N.º 2, pp. 184-188. Cuando una célula T redireccionada se encuentra con una célula diana, tal como una célula blástica en el LCR y mata a la célula diana, la célula T también se activará y, por lo tanto, atraerá a más células efectoras y desencadenará, por ejemplo, la producción de citoquinas. Se asume que uno o más de estos eventos contribuyen a la neuroinflamación y/o a efectos tóxicos en las células neuronales de factores solubles, tales como las citoquinas, que podrían resultar en el desarrollo de una reacción neurológica adversa.

50

Por tanto, habiendo observado en ensayos clínicos lo anterior, los autores de la presente invención descubrieron que la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto que padece LLA de precursores B y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR de dicho sujeto son parámetros de pronóstico adecuados que deben tenerse en cuenta en el tratamiento de la LLA de precursores B.

55

Específicamente, los autores de la presente invención encontraron que una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células
 60 diana, mientras que una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana.

65

Además, los autores de la presente invención encontraron que más de 5 de células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende

redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR un sujeto que padece LLA de precursores B es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana.

5

Por lo tanto, los autores de la presente invención, por así decirlo, determinaron dos factores de riesgo para sujetos que padecen LLA de precursores B (a veces también llamados "pacientes con LLA") que, idealmente, deben verificarse antes de que se les administre un dominio de unión a CD3 a dichos sujetos, la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR. Este hallazgo fue una sorpresa para los autores de la presente invención, ya que hasta el momento el factor de riesgo (falta de células B protectoras) hasta el momento solo podía establecerse de manera confiable en el tratamiento del linfoma no Hodgkin (LNH) con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, pero no en el tratamiento de la LLA de precursores B con dicha terapia. La explicación más probable para esto puede basarse en el hecho de que la infiltración de la médula ósea por células B leucémicas desempeña un papel mucho más importante en la LLA de precursores B que en el LNH.

El hallazgo de los autores de la presente invención, por lo tanto, allana el camino para estratificar el riesgo de sujetos que padecen la LLA de precursores B, donde dichos sujetos están destinados a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana en categorías de sujetos que pueden o pueden no estar en riesgo de posibles reacciones neurológicas adversas. En particular, aunque los sujetos pueden estar en tal riesgo, la presente invención enseña qué hacer para tener un riesgo muy reducido o idealmente nulo. En consecuencia, los hallazgos de los autores de la presente invención también allanan el camino para tratar la LLA de precursores B con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que al mismo tiempo reduce o incluso elimina el riesgo de posibles reacciones neurológicas adversas. Por lo tanto, la presente invención contribuye en gran medida a una terapia para la LLA de precursores B con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, que idealmente está libre de reacciones neurológicas adversas.

Para evitar cualquier duda, se subraya que la descripción de la presente invención, incluidas todas las definiciones, etc., es totalmente aplicable a todas las realizaciones que forman parte de la presente invención (es decir, están relacionadas con la esencia de la invención y, por lo tanto, se incluyen en el contexto de la presente invención), independientemente de si estas realizaciones están redactadas como realizaciones de un procedimiento para la estratificación de riesgo de los sujetos, realizaciones para el uso en procedimientos de tratamiento o realizaciones de un uso o procedimiento para predecir el riesgo, etc. Por lo tanto, todas las definiciones y realizaciones pueden usarse y aplicarse a todas las realizaciones descritas en el presente documento.

Definiciones

Cabe señalar que tal como se usa en el presente documento, las formas en singular "un/o", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural y vice versa, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Entonces, por ejemplo, una referencia a "una célula huésped" o "un procedimiento" incluye una o más de estas células huésped o procedimientos, respectivamente, y una referencia a "el procedimiento" incluye etapas equivalentes y procedimientos que podrían modificarse o sustituirse como es conocido por los expertos en la técnica. Del mismo modo, por ejemplo, una referencia a "procedimientos" o "células huésped" incluye "una célula huésped" o "un procedimiento", respectivamente.

A menos que se indique lo contrario, el término "al menos" que precede a una serie de elementos debe entenderse que se refiere a cada elemento de la serie. Los expertos en la materia reconocerán, o podrán comprobar usando no más que la experimentación de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en el presente documento. Se pretende que dichos equivalentes estén incluidos en la presente invención.

El término "y/o" donde se use en el presente documento incluye el significado de "y", "o" y "todos o cualquier otra combinación de los elementos conectados por dicho término". Por ejemplo, A, B y/o C significa A, B, C, A + B, A + C, B + C y A + B + C.

55

A lo largo de esta especificación y las reivindicaciones o elementos, a menos que el contexto requiera lo contrario, la palabra "comprender" y las variaciones tales como "comprende" y "que comprende" se entenderá que implican la inclusión de un entero (o etapa) establecido o un grupo de enteros (o etapas). No excluye ningún otro entero (o etapa) o grupo de enteros (o etapas). Cuando se usa en el presente documento, el término "que comprende" puede sustituirse por "que contiene", "compuesto por", "que incluye", "que tiene" o "que lleva". Cuando se usa en la presente, "que consiste en" excluye todo entero o etapa que no se especifique en la reivindicación. Cuando se usa en la presente, "que consiste esencialmente en" no excluye enteros o etapas que no afecten sustancialmente las características básicas y novedosas de la reivindicación. En cada aspecto en la presente, se puede reemplazar cualquiera de las expresiones "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" por cualquiera de las otras dos expresiones.

65

Además, al describir realizaciones representativas de la presente invención, la especificación puede haber presentado el procedimiento y/o el proceso de la presente invención como una secuencia particular de etapas. Sin embargo, en la medida en que el procedimiento o proceso no se base en el orden particular de las etapas establecidas en el presente documento, el procedimiento o proceso no debe limitarse a la secuencia particular de etapas descritas. Como un experto en la técnica podría apreciar, pueden ser posibles otras secuencias de etapas. Por lo tanto, el orden particular de las etapas establecidas en la memoria descriptiva no debe interpretarse como limitaciones de las reivindicaciones. Además, las reivindicaciones dirigidas al procedimiento y/o proceso de la presente invención no deberían limitarse al rendimiento de sus etapas en el orden escrito, y un experto en la técnica puede apreciar fácilmente que las secuencias pueden variar y aún permanecer dentro del espíritu y alcance de la presente invención.

Debe entenderse que la presente invención no está limitada a la metodología, protocolos, material, reactivos y sustancias particulares, etc., descritos en el presente documento. Las terminologías usadas en el presente documento tienen el propósito de describir solo realizaciones particulares y no pretenden limitar el alcance de la presente invención, que se define únicamente por las reivindicaciones/elementos.

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B, dichos sujetos están destinados a una terapia que comprende la redirección de células T contra células diana, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende

- (a) determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; y/o determinar el número de células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto,
- (b) estratificar el riesgo de dicho sujeto en una de las siguientes categorías:
 - (i) sujetos que tienen una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;
 - (ii) sujetos con 5 células blásticas o menos por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;
 - (iii) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, mientras que dichos sujetos tienen 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;
 - (iv) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;
 - (v) sujetos con más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos; o
 - (vi) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, mientras que dichos sujetos tienen más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos.

Los términos "estratificar el riesgo" y "estratificación de riesgo" como se usan en el presente documento significan que los sujetos se identifican en base a pruebas moleculares, bioquímicas, anatómicas y/o histológicas y, por tanto, se asignan a o se clasifican en categorías de sujetos con el objetivo de seleccionar el manejo óptimo para los sujetos y lograr el mejor resultado posible en términos de manejo del riesgo y logro del resultado óptimo del tratamiento, en este caso, en particular el tratamiento de la LLA de precursores B en un escenario ideal sin riesgo de posibles reacciones neurológicas adversas. La clasificación depende de la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto individual y/o depende del número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto individual. La cantidad de blastocitos en una muestra de médula ósea y/o el número de blastocitos en una muestra de LCR indica si un sujeto puede tener un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa o un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa. Por tanto, una determinada categoría a la que se asigna un sujeto refleja, por así decirlo, la probabilidad de un riesgo de experimentar una reacción neurológica adversa cuando se trata a un sujeto con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra las células diana.

El procedimiento para estratificar el riesgo de los sujetos permite, por tanto, en una realización preferida la predicción (del riesgo) de si un sujeto desarrollará o no una posible reacción neurológica adversa. De manera similar, el procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos permite en una realización preferida mitigar una posible reacción neurológica adversa.

Un valor de porcentaje de "corte" para la cantidad de células blásticas por 200 células blásticas contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto es aproximadamente el 20 %. Menos de un 20 % de células blásticas en dicha muestra de médula ósea es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que al menos un 20 % de células blásticas en dicha muestra de médula ósea es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando se le somete a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana.

El término "en torno a" o "aproximadamente" tal como se usa en el presente documento en el contexto del valor porcentual de las células blásticas en una muestra de médula ósea significa dentro del 10 %, preferentemente

dentro del 5 %, y más preferentemente dentro del 5 % del valor porcentual dado. Incluye también el número concreto, por ejemplo, aproximadamente 20 incluye 20.

El término "o menos" o "menos que", o el término "o más" o "más que" incluye el número concreto. Por ejemplo, menos de 20 significa ≤ 20 y más de 20 significa ≥ 20 .

5

Un valor de "corte" para el número de blastocitos por 1 μ l en una muestra de LCR de un sujeto es aproximadamente 5. Más de 5 de células blásticas en dicha muestra de LCR es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, mientras que 5 o menos células blásticas en dicha muestra de LCR es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana.

10

El término "en torno a" o "aproximadamente" tal como se usa en el presente documento en el contexto del valor de las células blásticas en una muestra de LCR significa dentro del 60 %, preferentemente dentro del 40 %, y más preferentemente dentro del 20 % del valor dado. Incluye también el número concreto, por ejemplo, aproximadamente 5 incluye 5.

15

El término "o menos" o "menos que", o el término "o más" o "más que" incluye el número concreto. Por ejemplo, menos de 5 significa ≤ 5 y más de 5 significa ≥ 5 .

"Leucemia linfoblástica aguda", abreviada "LLA", cuando se usa en el presente documento incluye la LLA de precursores B o que también se denomina LLA de precursores de células B (ambos términos también están incluidos en la LLA "pediátrica" o infantil), así como la LLA en adultos, es decir, la LLA en el adulto. La LLA de precursores B es el tipo más común de la LLA. La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una forma de leucemia o cáncer de los glóbulos blancos que se caracteriza por un exceso de linfoblastos. La LLA se caracteriza, entre otras cosas, por la multiplicación continua de glóbulos blancos inmaduros y malignos que se producen en exceso en la médula ósea. La LLA causa daño y muerte al desplazar a las células normales de la médula ósea y al diseminarse (infiltrarse) a otros órganos. La LLA es más común en la infancia, con una incidencia máxima entre los 2 y los 5 años de edad y otra incidencia máxima en la vejez. "Agudo" se refiere al curso de tiempo relativamente corto de la enfermedad (siendo fatal en tan solo unas pocas semanas si no se trata) para diferenciarlo de la enfermedad muy diferente de la leucemia linfocítica crónica, que tiene un curso de tiempo potencial de muchos años. Se la conoce indistintamente como linfocítica o linfoblástica. Esto se refiere a las células que están involucradas, que si fueran normales se llamarían linfocitos pero se ven en esta enfermedad en un estado relativamente inmaduro (también denominado "blástico"). La LLA, cuando se hace referencia en el presente documento, comprende preferentemente linfocitos malignos positivos para CD19. La LLA de precursores B es, en el contexto de la presente invención, una realización preferida de la LLA.

20

25

30

35

40

"Maligno" describe linfocitos (en particular células B) que contribuyen a un empeoramiento progresivo de la enfermedad, en particular, linfoma o leucemia y las enfermedades descritas en el presente documento. Los linfocitos malignos positivos para CD19 (en particular las células B) no son autolimitados en su crecimiento, son capaces de invadir los tejidos adyacentes y pueden propagarse a tejidos distantes (metástasis). Maligno cuando se usa en el presente documento es sinónimo de canceroso. El documento WO 2010/052013 proporciona medios y procedimientos para tratar la LLA pediátrica o infantil, especialmente la LLA pediátrica refractaria y/o recidivante.

Cuando se usa en el presente documento, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) pediátrica o infantil incluye la LLA pediátrica de linaje B, preferentemente la LLA leucemia linfoblástica aguda de precursores B pediátrica, más preferentemente la LLA pro-B pediátrica, la LLA pre-B o la LLA común (LLAc). Aún más preferentemente, la LLA de precursores B pediátrica es la LLA común (LLAc). La leucemia linfoblástica aguda (LLA) pediátrica o infantil también incluye la enfermedad mínima residual (EMR) en un paciente pediátrico con leucemia linfoblástica aguda (LLA).

45

El término "LLA pediátrica refractaria", como se usa en el presente documento, significa resistencia de la LLA pediátrica a la terapia contra la LLA pediátrica convencional o estándar, como quimioterapia y/o TCMH. Actualmente, la tasa de recaída en la LLA pediátrica está en torno al 25 %. Dicho en otras palabras: La terapia convencional o estándar contra la LLA pediátrica no es capaz de curar finalmente a todos los pacientes pediátricos.

50

El término "LLA pediátrica recidivante", como se usa en el presente documento, denota el retorno de los signos y síntomas de la enfermedad de la LLA después de que un paciente pediátrico haya tenido una remisión. Por ejemplo, después de un tratamiento convencional de LLA con quimioterapia y/o TCMH, un paciente pediátrico con LLA puede entrar en remisión sin signos ni síntomas de la LLA, permanece en remisión por un par de años, pero luego padece una recaída y debe recibir nuevamente tratamiento contra la LLA.

55

El término "enfermedad mínima residual (EMR)" tal como se define en el presente documento denota un término usado después del tratamiento, p. ej., con quimioterapéuticos cuando no se pueden encontrar células leucémicas en la médula ósea mediante pruebas estándar, como los procedimientos microscópicos. Más bien, se deben usar pruebas más sensibles, como la citometría de flujo (procedimientos basados en FACS) o la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para encontrar pruebas de que las células de leucemia permanecen en la médula ósea del paciente pediátrico con LLA. Más específicamente, la presencia de células leucémicas por debajo del límite de detección citológica (5 % de células leucémicas) se define como enfermedad mínima residual (EMR). Si no se detecta EMR ($<10^{-4}$, es decir, menos de 1 célula leucémica por 10^4 células de médula ósea detectables), se alcanza

60

65

una remisión molecular completa (negatividad de EMR o estado EMR negativo) Un "estado EMR positivo" como se define en el presente documento significa una señal medida por PCR o FACS por encima del límite de detección o de un umbral cuantitativo. Un "estado EMR negativo" como se define en el presente documento significa una señal por debajo del límite de detección y/o por debajo de un umbral cuantitativo medido por PCR o FACS. El valor pronóstico de la cuantificación de la enfermedad mínima residual en la LLA infantil se ha descrito, p. ej., en Bader y col. (J. Clin. Oncol. 27 (2009): 377-384) o Eckert y col. (Lancet 358 (2001): 1239-41). El estado de la EMR se puede medir por PCR o mediante análisis por FACS en el sentido de que las anomalías citogenéticas individuales mencionadas B, en el presente documento y/o los reordenamientos de los genes de inmunoglobulina o los reordenamientos del receptor de células T (TCR) se detectan cuantitativamente. Por ejemplo, el análisis por PCR puede detectar transcripciones de fusión como bcr/abl o translocaciones t (4; 11), así como reordenamientos clonales individuales de inmunoglobulinas (IgH) y/o genes de receptores de células T (TCR).

El documento WO 2010/052014 proporciona medios y procedimientos para tratar la LLA en adultos. La "LLA de adultos" incluye la leucemia linfoblástica aguda de linaje, preferentemente la leucemia linfoblástica aguda de precursores B, la LLA que es refractaria a la quimioterapia en sujetos no elegibles para trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas, así como la enfermedad mínima residual (EMR) en un sujeto con Leucemia linfoblástica aguda (LLA).

Una "terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana" debe entenderse como una terapia, tal como un medicamento, que se caracteriza por la aparición y/o existencia de "células T redireccionadas", es decir, la terapia comprende o consiste en células T redireccionadas como tales, por ejemplo, células T genéticamente modificadas que tienen un receptor de antígeno quimérico CAR (formulado opcionalmente como una composición farmacéutica) y/o las células T redireccionadas aparecen en el curso de la terapia ejemplificada por un medicamento que comprende un dominio de unión específica a CD3 tal como se define en el presente documento, preferentemente un dominio de unión específica a CD3 junto con un dominio de unión que es específico para células B, más preferentemente un dominio de unión específica a CD3 junto con un dominio de unión que es específico para un marcador de CD que se puede encontrar en el linfoma de células B como CD19, CD22, CD20 o CD79a, prefiriéndose CD19. En una realización más preferida, dicha terapia que comprende redireccionar las células T contra células diana es una terapia con un anticuerpo biespecífico CD3 X CD19 y en una realización de máxima preferencia dicha terapia que comprende la redirección de células T contra células diana es una terapia con blinatumomab. Por lo tanto, en una realización particularmente preferida, dichas células T redireccionadas son células T humanas que se han puesto en contacto con (están unidas por) Blinatumomab (AMG 103). También se prevé que dicha terapia con Blinatumomab abarque la administración de 5 a 10 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$ o dosis más altas, tales como 15, 45 o 60 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$. Los dominios de unión específicos de CD-3 mencionados anteriormente se explican muy detalladamente en otra parte en el presente documento.

Los receptores de antígeno quimérico (CAR) son proteínas de fusión que comprenden restos de reconocimiento de antígeno y dominios de activación de células T. Por lo general, se extraen las células T de un paciente, se someten a ingeniería celular del receptor del antígeno quimérico (CAR) y luego se infunden como células T modificadas por ingeniería genética en el paciente. La ingeniería, que lleva unos 10 días, cambia la célula T de dos maneras. Primero, agrega un receptor que se dirige al antígeno que se encuentra en la mayoría de las células leucémicas; cuando las células se insertan de nuevo en el cuerpo del paciente, localizan este antígeno, se adhieren y destruyen la célula leucémica. En segundo lugar, el proceso inserta un mecanismo de vector viral en las células que, una vez que las células se han adherido a la leucemia, desencadenan la expansión y proliferación de estas células T, de modo que buscan y destruyen todas las células leucémicas restantes.

Para el tratamiento de enfermedades malignas de células B, se han descrito los CAR de CD19 que consisten en un dominio de unión específica a CD19 vinculado, por ejemplo, a CD3zeta, en estudios clínicos para la LLC-B (Porter y col. N Engl J Med. 2011; 365:725-33) y la LLA de precursores B (Grupp y col. N Engl J Med. 2013). Como se observó con la infusión de un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3, la transferencia adoptiva de células T transducidas con CD19 CAR en pacientes condujo a una erradicación rápida y sostenida de células B normales y malignas. Los eventos adversos comunes asociados con la terapia con células T CD19 CAR incluyeron el síndrome de liberación de citoquinas y linfopenia, pero también se informaron casos de EA del SNC. Por lo tanto, la interferencia con la adhesión y la trans migración de las células T CD19 CAR al/a través del endotelio del revestimiento de los vasos sanguíneos también es un enfoque conveniente para la profilaxis y/o la mejora de los EA del SNC inducidos por las células T CD19 CAR. Cabe señalar que se prevé que el tratamiento con células T CAR dirigidas a otros antígenos específicos de células B (por ejemplo, CD20) también se beneficiaría de la comedición con compuestos con propiedades antiadhesivas para la profilaxis y/ o la mejora de los EA del SNC causados por dichas células T CAR.

El "receptor de antígeno quimérico (CAR)", tal como se usa en el presente documento, comprende un dominio de unión que es específico para las células B, preferentemente específico para un marcador de CD que se puede encontrar en el linfoma de células B, como CD19, CD22, CD20 o CD79a, prefiriéndose CD19. Las células T que han sido modificadas por ingeniería genética para expresar un receptor de antígeno quimérico CAR (un CAR de células T) se ilustran en el documento WO2007/131092. Mientras tanto, se sabe que también una terapia que comprende un CAR de células T desencadena eventos adversos clínicos, y en particular EA del SNC.

En el presente documento se describe además un ácido nucleico que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR) para su uso en un procedimiento de redireccionamiento de células T contra células diana en un sujeto como se describe en el presente documento. Una secuencia de ácido nucleico, por lo tanto, incluye, aunque no se limita a ellos, vectores, etc., que permitirán la expresión de los CAR deseados en células T (véase, por ejemplo, el documento WO2007/131092).

El término "células diana" no se limita específicamente y se refiere preferentemente a células diana cancerosas (en particular, las células cancerosas que expresan una diana adecuada que las hace atacables). Las células de linfoma B son las más preferidas, siendo de especial preferencia las células B positivas para CD19 (células de linfoma B).

El término "sujeto" incluye a todos los mamíferos, pero no se limita a ratones, ratas, perros, caballos, camellos, primates, etc., prefiriéndose los primates y siendo los seres humanos los más preferidos. En una realización preferida, se sospecha/se supone que el sujeto comprende o ya comprende células B malignas positivas para CD19. En este último caso, a dicho paciente ya la ha diagnosticado que comprende dichas células. Las células B malignas positivas para CD19 están presentes en un sujeto que desarrolla y/o padece LLA. Preferentemente, un sujeto que se tratará o se trata con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana está (o ha sido) estratificado por riesgo de acuerdo con el procedimiento del primer aspecto de la presente invención tal como se describe en el presente documento. Cuando se usa en el presente documento, el término "sujeto" se usa de manera equivalente con el término "paciente". Por lo tanto, estos dos términos se pueden usar indistintamente en el presente documento. El término "sujeto" tal como se usa en el presente documento incluye sujetos humanos no adultos y adultos. El término "LLA de adultos" o "paciente adulto con LLA" o "paciente adulto" tal como se menciona en el presente denota adultos mayores de 18 años, es decir, pacientes de 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, o 50 años o más. Incluso los pacientes con 70, 75, 80, 85, 90, 100 años o más pueden ser tratados. El término "LLA pediátrica" o "LLA infantil" debe entenderse como LLA de un sujeto pediátrico con edades comprendidas entre 1 mes (incluido 1 mes) y 18 años (incluidos los 18 años).

Las "células endoteliales" de mamíferos se pueden aislar de grandes vasos o de capilares. El término "células endoteliales" incluye de este modo células endoteliales recién aisladas (por ejemplo, HUVEC), células endoteliales disponibles comercialmente de diferentes fabricantes (por ejemplo, PromoCell) y líneas celulares endoteliales, aunque las líneas celulares endoteliales son menos preferidas. Se prefieren las células endoteliales humanas. Las células endoteliales de la vena de cordón umbilical humano (HUVEC) y las células endoteliales microvasculares de cerebro humano (HBMEC) son particularmente preferidas, siendo las más preferidas las HBMEC.

El grado de un efecto adverso puede, por ejemplo, medirse de acuerdo con los Criterios de Terminología Comunes del NCI para Eventos Adversos v3.0 (CTCAE) (Fecha de publicación: 12 de diciembre de 2003) en las clasificaciones. Un grado se refiere a la gravedad de los efectos adversos. El CTCAE v3.0 muestra los grados 1 a 5 con descripciones clínicas únicas de la gravedad de cada efecto adverso. El grado 1 se relaciona con los EA leves, el grado 2 con los EA moderados, el grado 3 con los EA graves, el grado 4 con los EAs discapacitantes o con discapacidad, mientras que el grado 5 significa muerte relacionada con los EA. Todos estos EA se contemplan en el marco de la presente invención y se incluyen con el término "eventos clínicos adversos" o "efectos adversos" o términos relacionados que se usan en el presente documento.

El término "eventos adversos clínicos" utilizado en el presente documento causados por una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana en un paciente comprende en particular eventos adversos neurológicos. Dicho evento adverso neurológico, que a veces también se denota como "síntoma neurológico" o "efecto adverso neurológico" o "evento adverso del sistema nervioso central (EA SNC)", incluye pero no se limita a las afecciones de un sujeto, preferentemente un sujeto humano, tales como todas las formas de dolor, cefalea, debilidad/falta de coordinación muscular, trastorno del equilibrio, trastorno/dificultad del habla, alteración/anomalías sensoriales, mareos, ataxia, apraxia, temblor, afasia, disfasia, confusión, desorientación, alucinación, síntomas cerebelosos, encefalopatía, convulsiones, convulsiones (de tipo gran mal). Específicamente, los síntomas neurológicos observados durante el tratamiento con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, por ej., a través de la transducción de células T con CAR o reclutamiento de células T a través de un compuesto que comprende un dominio de unión específica a CD3 incluyen, por ejemplo, confusión y desorientación. "Confusión", como se usa en este documento, se refiere a la pérdida de orientación, que es la capacidad de ubicarse correctamente en el mundo por tiempo, ubicación e identidad personal, y con frecuencia la memoria es la capacidad de recordar eventos anteriores o aprender material nuevo. Los pacientes generalmente tienen dificultades para concentrarse y el pensamiento no solo es confuso y poco claro, sino que a menudo se ralentiza significativamente. Los pacientes con síntomas neurológicos también padecen pérdida de memoria. Con frecuencia, la confusión conduce a la pérdida de la capacidad de reconocer a personas y/o lugares, o de indicar la hora y la fecha. Los sentimientos de desorientación son frecuentes en la confusión, y la capacidad de tomar decisiones se ve afectada. Los síntomas neurológicos comprenden además dificultades para hablar y/o encontrar palabras. Este trastorno puede afectar la expresión y comprensión del lenguaje, así como la lectura y la escritura. Además, en algunos pacientes, los síntomas neurológicos en síntomas pueden estar acompañados por vértigo y mareo.

El término "potencial" cuando se usa en el contexto de efectos adversos significa que, aunque un sujeto puede tener menos de un 20 % de células blásticas por 200 células blásticas contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto y/o más de 5 células blásticas en una muestra de LCR de dicho sujeto, dicho sujeto no necesariamente tiene que experimentar efectos adversos. En consecuencia, el término "posible" implica que el procedimiento del primer aspecto de la presente invención proporciona predicciones sobre si un sujeto puede o no tener efectos adversos, pero, por sí solo, no puede proporcionar una predicción segura al 100 %, ya que, aparte de la cantidad de blastocitos por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de un sujeto y/o el número de blastocitos en una muestra de LCR de un sujeto, factores individuales como sexo, edad, peso, estado nutricional y estado de salud, la medicación previa, etc. pueden influir sobre si un sujeto experimentará o no efectos adversos.

Tal como se explica en el presente documento, el procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B permite clasificar a los sujetos en categorías de riesgo en función de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto. Específicamente,

- (i) una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- (ii) un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- (iii) una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- (iv) una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- (v) un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana; o
- (vi) una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra las células diana.

El término "indicativo de" cuando se usa en el contexto de los procedimientos y usos en el presente documento significa que la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto y/o un número de células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de un sujeto es un factor de riesgo potencial o un indicador de riesgo en cuanto a si un sujeto puede o no tener un riesgo reducido o nulo de una reacción neurológica adversa o puede tener un riesgo mayor de una reacción neurológica adversa, respectivamente.

Por lo tanto, la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de un sujeto y/o un número de células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de un sujeto son, por así decirlo, biomarcadores de la estratificación del riesgo.

En una realización, los sujetos de las categorías (v) y (vi) están sujetos preferentemente a quimioterapia intratecal antes del tratamiento con la terapia como se describe en el presente documento. Esto se prevé con el fin de reducir el número de células blásticas en el SNC o, idealmente, incluso eliminarlas en el SNC, ya que dichas células son células diana de la terapia que se describe en el presente documento, por lo que la destrucción de dichas células diana en el SNC puede causar reacciones neurológicas adversas en línea con las consideraciones de los autores de la presente invención y las observaciones de los ensayos clínicos.

Los sujetos de la categoría (i) en una realización están sujetos preferentemente a quimioterapia y/o tratamiento con cortisona antes del tratamiento con la terapia tal como se describe en el presente documento, si dichos sujetos tienen una cantidad de blastos en una muestra de médula ósea del 50 % o más. Esto está previsto para evitar un posible síndrome de lisis tumoral.

Sobre la base de los hallazgos de los autores de la presente invención, es posible aplicar un manejo del riesgo para sujetos que padecen LLA de precursores B con el objetivo de reducir o incluso eliminar los posibles efectos secundarios adversos, en particular, las posibles reacciones neurológicas adversas.

Por tanto, en un segundo aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada por ingeniería genética que tiene un receptor

de antígeno quimérico (CAR) para uso en un procedimiento para tratar la LLA de precursores B en un sujeto, dicho sujeto es

- (a) un sujeto con más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto,
- (b) un sujeto que tiene una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; o
- (c) un sujeto que tiene una cantidad de menos de un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto y que tiene 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto.

- 10 En relación con la presente invención, un "dominio de unión específica a CD3" a veces también se denota en el presente documento como "dominio de unión a CD3" caracteriza un dominio de unión que comprende un marco/región marco y un "sitio de unión al antígeno" o un "sitio de interacción con el antígeno" que es capaz de interactuar de manera específica con un antígeno CD3. También se entiende que dicha unión/interacción define un "reconocimiento específico". El término "interaccionar de manera específica/interaccionar" significa de acuerdo
- 15 con la presente invención que el dominio de unión es capaz de unirse a al menos dos, preferentemente al menos tres, más preferentemente al menos cuatro aminoácidos del antígeno CD3, preferentemente del antígeno CD3epsilon, y más preferentemente del antígeno CD3epsilon humano. Dichos dominios de unión a CD3, así como epítomos específicos de CD3epsilon, son bien conocidos por los expertos y se ejemplifican muy detalladamente, por ejemplo, en el documento WO2008119567o en el documento WO2008119566.

- 20 En una realización, una reacción neurológica es una o más seleccionadas de entre el grupo que consiste en: confusión, ataxia, desorientación, disfasia, afasia, deficiencia del habla, síntomas cerebelosos, temblor, apraxia, convulsiones, convulsiones de tipo gran mal, parálisis y trastorno del equilibrio.

- 25 La terapia comprende el redireccionamiento de células T contra células diana en un sujeto, incluye un dominio de unión a CD3 que es preferentemente un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla.

Dicha terapia comprende redireccionamiento de células T contra células diana en un sujeto que incluye un dominio de unión a CD3, dicha terapia incluye una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR).

- 30 Dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla es preferentemente un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3, donde dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3 es preferentemente blinatumomab (AMG 103).

- 35 En una realización preferida, la terapia es para un ser humano.

Como se usa en el presente documento, "CD3" denota una molécula expresada como parte del complejo receptor de células T y tiene el significado que se le atribuye normalmente en la técnica anterior. En humanos, abarca de forma individual o combinada de manera independiente todas las subunidades CD3 conocidas, por ejemplo,

40 CD3epsilon, CD3delta, CD3gamma y CD3zeta. El antígeno CD3epsilon humano está publicado en Genbank bajo el número de acceso NM_000733.

Un ejemplo preferido de un dominio de unión específica a CD3 es un anticuerpo. El dominio de unión específica a CD3 puede ser un anticuerpo monoclonal o policlonal o derivado de un anticuerpo monoclonal o policlonal. El

45 término "anticuerpo" comprende derivados o fragmentos funcionales del mismo que aún conservan la especificidad de unión. Las técnicas para la producción de anticuerpos son bien conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en

Harlow and Lane "Antibodies, A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988 y Harlow y Lane "Using Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999. El término "anticuerpo" también comprende inmunoglobulinas (Ig) de diferentes clases (es decir, IgA, IgG, IgM, IgD e IgE) y subclases (como IgG1, IgG2, etc.). La definición del término "anticuerpo" también incluye realizaciones tales como anticuerpos quiméricos, monocatenarios, desinmunizados y humanizados, así como fragmentos de anticuerpos, como, entre otros, fragmentos Fab. Los fragmentos o derivados de anticuerpos comprenden además fragmentos F(ab')₂, Fv, scFv o anticuerpos de dominio único, anticuerpos de dominio variable único o dominio variable único de

55 inmunoglobulina que comprende únicamente un dominio variable, que puede ser VH o VL, que se une específicamente a un antígeno o epítipo independientemente de otras regiones V o dominios; véase, por ejemplo, Harlow y Lane (1988) y (1999), citados anteriormente. Dicho dominio variable único de inmunoglobulina abarca no solo un polipéptido de dominio variable único de anticuerpo aislado, sino también polipéptidos más grandes que comprenden uno o más monómeros de una secuencia de polipéptido de dominio variable único de anticuerpo.

60 El término "marco (región)" incluye un andamio para los sitios de unión a antígeno. Por ejemplo, dicho andamio podría ser proporcionado por la proteína A, en particular, el dominio Z de la misma (affibodies), ImmE7 (proteínas de inmunidad), BPTI/APPI (dominios de Kunitz), proteína de unión a Ras AF-6 (dominios de PDZ), charibdotoxina (toxina del escorpión), CTLA-4, Min-23 (knotinas), lipocalinas (anticalinas), neocarzinostatina, un dominio de

65 fibronectina, un dominio de repetición de consenso de anquirina o tioredoxina (Skerra. Curr Opin Biotechnol. 2007;

18:295-304; Hosse y col. *Protein Sci.* 2006; 15:14-27; Nicaise y col. *Protein Sci.* 2004; 13:1882-91; Nygren y Uhlen. *Curr Opin Struct Biol.* 1997, 7:463-9).

En el contexto de la presente invención, un marco preferido son las porciones reconocidas en la técnica de una región variable de anticuerpo que existen entre las regiones determinantes de complementariedad (CDR) más divergentes (es decir, hipervariables) dentro de la región variable de un anticuerpo. Dichas regiones marco se denominan normalmente marcos 1 a 4 (FR1, FR2, FR3 y FR4) y proporcionan andamios para la presentación de las seis CDR (tres de la cadena pesada y tres de la cadena ligera) en un espacio tridimensional, para formar una superficie de unión a antígeno.

- 10 Se prefieren los formatos de anticuerpos biespecíficos; sin embargo, no se excluyen otros formatos de anticuerpos multiespecíficos (triespecíficos, tetrabodies, etc.). Un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla contiene o comprende dicho dominio de unión a CD3. Dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla comprende además en otra realización preferida de la presente invención un dominio de unión que es específico para células B, preferentemente específico para un marcador de CD que se puede encontrar en el linfoma de células B, como
- 15 CD19, CD22, CD20 o CD79a, prefiriéndose CD19. En una realización particularmente preferida, dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla es un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3 o CD20 x CD3. En una realización aún más preferida, dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3 es Blinatumomab (MT103/AMG 103). En otra realización preferida adicional de la presente invención, dichos anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla CD19 x CD3 comprenden un primer dominio de unión capaz de unirse a un epítipo de
- 20 CD3epsilon humano y un segundo dominio de unión capaz de unirse a CD19 humano. Los antígenos CD humanos se encuentran fácilmente en bases de datos disponibles públicamente. El antígeno CD19 humano, por ejemplo, está publicado en Genbank bajo el número de acceso AAA69966.
- Todos los anticuerpos biespecíficos de cadena sencillas CD19xCD3 ahí descritos, incluidas sus variantes, fragmentos, equivalentes, etc., son los anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla CD19xCD3 particularmente
- 25 preferidos de la presente invención.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3" denota una cadena polipeptídica sencilla que comprende dos dominios de unión. Dichos anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla se prefieren en el contexto de los procedimientos/régimen de dosificación de la presente invención. Cada

30 dominio de unión comprende al menos una región variable de una cadena pesada de anticuerpo ("región VH o H"), donde la región VH del primer dominio de unión se une específicamente a CD3epsilon y la región VH del segundo dominio de unión se une específicamente a CD19. Los dos dominios de unión están unidos opcionalmente entre sí por un espaciador polipeptídico corto. Un ejemplo no limitante para un polipéptido espaciador es Gly-Gly-Gly-Ser (G-G-G-G-S) y repeticiones del mismo. Cada dominio de unión puede comprender adicionalmente una región

35 variable de una cadena ligera de anticuerpo ("región VL o L"), estando la región VH y la región VL dentro de cada uno de los dominios de unión primero y segundo unidas entre sí a través de un enlazador polipeptídico, por ejemplo, del tipo que se describe y reivindica en el documento EP 623679 B1, pero en cualquier caso suficientemente largo para permitir que la región VH y la región VL del primer dominio de unión y la región VH y la región VL del segundo dominio de unión se emparejen entre sí de manera que, juntas, son capaces de unirse específicamente al primer y

40 segundo dominio de unión respectivo. Dichos anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla CD19xCD3 se describen muy detalladamente en los documentos WO 99/54440y WO 2004/106381.

Preferentemente, el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla que se aplica en los procedimientos/régimen de dosificación de la presente invención tiene la disposición de dominio

- 45 (a) VL(CD19)-VH(CD19)-VH(CD3)-VL(CD3). Sin embargo, también se contempla que los procedimientos de la presente invención se puedan llevar a cabo con anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla CD19xCD3 de otras disposiciones de dominio, tales como
- (b) VH(CD19)-VL(CD19)-VH(CD3)-VL(CD3),
- (c) VL(CD19)-VH(CD19)-VL(CD3)-VH(CD3),
- 50 (d) VH(CD19)-VL(CD19)-VL(CD3)-VH(CD3),
- (e) VL(CD3)-VH(CD3)-VH(CD19)-VL(CD19),
- (f) VH(CD3)-VL(CD3)-VH(CD19)-VL(CD19),
- (g) VL(CD3)-VH(CD3)-VL(CD19)-VH(CD19), o
- (h) VH(CD3)-VL(CD3)-VL(CD19)-VH(CD19).
- 55

Un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 que se aplica en los procedimientos de la presente invención comprende las

- (a) CDR anti-CD3 de la cadena pesada que se muestran como CD3 CDR-H1 en SEQ ID NO: 11 (RYTMH), más preferentemente en SEQ ID NO: 11 (GYTFTRYTMH), CD3 CDR-H2 en SEQ ID NO: 12 (YINPSRGYTNYNQKFKD) y CD3 CDR-H3 en SEQ ID NO: 13 (YYDDHYCLDY); y/o las
- 60 (b) CDR anti-CD3 de la cadena ligera que se muestran como CD3 CDR-L1 en SEQ ID NO: 14 (RASSSVSYMN), CD3 CDR-L2 en SEQ ID NO: 15 (DTSKVAS) y CD3 CDR-L3 en SEQ ID NO: 16 (QQWSSNPLT); y/o las
- (c) CDR anti-CD19 de la cadena pesada que se muestran como CD19 CDR-H1 en SEQ ID NO: 17 (SYWMN), más preferentemente en SEQ ID NO: 17 (GYAFSSYWMN), CD19 CDR-H2 en SEQ ID NO: 18 (QIWPGDGDTNYNGKFKG) y CD19 CDR-H3 en SEQ ID NO: 19 (RETTTVGRYYYYAMDY); y/o las
- 65

(d) CDR anti-CD19 de la cadena pesada que se muestran como CD19 CDR-L1 en SEQ ID NO: 20 (KASQSVDYDGDSYLN), CD19 CDR-L2 en SEQ ID NO: 21 (DASNLVS) y CD19 CDR-L3 en SEQ ID NO: 22 (QQSTEDPWT).

- 5 Es más preferible que el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 que se aplica en los procedimientos de la presente invención comprenda las CDR CD3 de la cadena pesada y ligera. Incluso más preferentemente, el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 que se aplica en los procedimientos de la presente invención comprende las CDR CD3 de la cadena pesada y ligera, así como las CDR CD19 de la cadena pesada y ligera. Los CDR a los que se hace referencia en el presente documento son acordes al sistema de numeración de Kabat. El esquema de numeración de Kabat es un estándar ampliamente adoptado para numerar los residuos de un anticuerpo de manera coherente (Kabat y col., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 1991).

De manera alternativa, se prefiere que el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 que se aplica en los procedimientos de la presente invención comprenda la

- 15 (a) cadena pesada variable CD19 mostrada en SEQ ID NO: 3 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 4); y/o
 (b) cadena ligera variable CD19 mostrada en SEQ ID NO: 5 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 6); y/o
 20 (c) cadena pesada variable CD3 mostrada en SEQ ID NO: 7 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 8); y/o
 (d) cadena ligera variable CD3 mostrada en SEQ ID NO: 9 (la secuencia de nucleótidos se muestra en SEQ ID NO: 10).

- 25 Más preferentemente, el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 que se aplica en los procedimientos de la presente invención comprende la cadena pesada y ligera variable CD19 y/o la cadena pesada y ligera variable CD3. Incluso más preferentemente, el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 que se aplica en los procedimientos de la presente invención comprende la cadena pesada y ligera variable de CD19 así como la cadena pesada y ligera variable de CD3.

- 30 En otra alternativa, también se prefiere que el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 comprenda una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre el grupo que consiste en
 (a) una secuencia de aminoácidos como se representa en SEQ ID NO: 1;
 (b) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico como se muestra en SEQ ID NO: 2;
 35 (c) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos un 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o 99 % de identidad con una secuencia de ácido nucleico de (b), donde dicha secuencia de aminoácidos es capaz de unirse específicamente a CD3 y CD19; y
 (d) una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico que está degenerada como resultado del código genético a una secuencia de nucleótidos de (b), donde dicha secuencia de aminoácidos es
 40 capaz de unirse específicamente a CD3 y CD19.

- Debe entenderse que la identidad de la secuencia se determina a lo largo de toda la secuencia de aminoácidos. Para alineamientos de secuencias, se pueden usar, por ejemplo, los programas Gap o BestFit (Needleman y Wunsch. J Mol Biol. 1970; 48:443-53; Smith y Waterman. Adv Appl Math. 1981; 2:482-9), que están contenidos en el paquete de software GCG (Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wisconsin, USA 53711). Es un procedimiento de rutina para los expertos en la materia determinar e identificar una secuencia de aminoácidos que tiene, p. ej., el 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla CD19xCD3 descritos en el presente documento (preferentemente Blinatumomab). Por ejemplo, de acuerdo con la hipótesis del balanceo de Crick, la base 5' en el anti-codón no está tan limitada espacialmente como las otras dos bases, y por lo tanto, podría tener un emparejamiento de bases atípico. En otras palabras: la tercera posición en un triplete de codón puede variar, de modo que dos tripletes que difieren en esta tercera posición pueden codificar el mismo residuo de aminoácido. Dicha hipótesis es bien conocida por el experto en la materia (véase, por ejemplo, http://en.wikipedia.org/wiki/Wobble_Hypothesis; Crick. J Mol Biol. 1966, 19:548-55). Además, es un procedimiento de rutina para los expertos en la materia determinar la actividad citotóxica de una secuencia de aminoácidos de este tipo que tiene, p. ej., un 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con las secuencias de nucleótidos o aminoácidos de los anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla CD19xCD3 que se describen en el presente documento. La actividad citotóxica del anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 o de una construcción de anticuerpo que tiene, p. ej., un 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o
 60 99 % de identidad de secuencia con las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos biespecíficos de cadena sencilla CD19xCD3 que se describen en el presente documento puede determinarse mediante los procedimientos que se ilustran, por ejemplo, en el documento WO 99/54440.

- Se prefiere particularmente que dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 tenga la secuencia de aminoácidos que se muestra en la SEQ ID NO: 1. También se prefiere particularmente el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 tal como se describe en el documento WO 99/54440 así como aquellos anticuerpos

biespecíficos de cadena sencilla CD19xCD3 descritos en los documentos WO 2004/106381 y WO 2008/119565. Blinatumomab (o AMG 103 o MT103) es el más preferido. También se prefiere que el anticuerpo biespecífico de cadena sencilla que se aplica en el contexto de la presente invención tenga una marca N y/o C-terminal, preferentemente una marca C terminal. Un ejemplo preferido de una marca C-terminal es una marca His. Dicha

5 marca His comprende o consiste en seis residuos de histidina de longitud. Es incluso más preferido que dicha marca His tenga seis residuos de histidina de longitud y se ubique en el extremo C-terminal del anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 de la presente invención. Por lo tanto, en una realización particularmente preferida de la presente invención, dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 comprende o consiste en un polipéptido como se representa por la SEC ID No: 1 y adicionalmente una marca hexa-histidina (HHHHHH) que se

10 encuentra en el extremo C-terminal. También se prefiere que la marca de purificación de proteínas (siendo la marca His más preferida y la marca Hexa-His la más preferida) esté unida al extremo C-terminal de dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 de la presente invención (que consiste preferentemente en o que comprende la SEQ ID No: 1) a través de un enlace peptídico.

En otra realización preferida, se produce dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3 que incluye

15 la(s) marca(s) de purificación de proteínas mencionada(s) anteriormente, siendo preferidas las marcas His y siendo más preferidas las marcas Hexa-His en el extremo C-terminal, en una célula huésped como se define en el presente documento. CHO es, de esa manera, una célula huésped particularmente preferida.

"Administración" o "administrar" o cualquier otra forma gramatical del mismo significa que un compuesto de una

20 terapia como se describe en el presente documento, como un dominio de unión a CD3 o células T que tienen un receptor de antígeno quimérico está en forma de una composición farmacéutica, que comprende opcionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Dicho compuesto puede ser el único agente terapéutico en dicha composición farmacéutica o estar en combinación

25 con otro agente terapéutico. Por lo tanto, se prevé que la composición farmacéutica de la presente descripción se emplee en enfoques de terapia conjunta, es decir, en administración conjunta con otros medicamentos o fármacos, por ejemplo, otros medicamentos para tratar la LLA y/o cualquier otro agente terapéutico que pueda ser beneficioso en el contexto de los usos de la presente invención.

La administración de una composición farmacéutica a la que se hace referencia en el presente documento es

30 preferentemente una administración intravenosa. Puede administrarse como una inyección en bolo o de forma continua (continuadamente). La administración puede ser una inyección en bolo o de manera continua o continuadamente, tal como también se usa a veces en el presente documento, prefiriéndose de manera continua o continuadamente. Una administración continua se refiere a una administración que es esencialmente sin

35 interrupción. "Esencialmente sin interrupción" incluye una administración continua, por lo general sin un flujo ininterrumpido o extensión espacial.

Por "cantidad terapéuticamente eficaz" se entiende una dosis que produce los efectos para los que se administra,

40 preferentemente el efecto es la reducción de las células blásticas malignas. La reducción incluye la eliminación de las células blásticas malignas o la conversión de un estado de leucemia linfoblástica aguda (LLA) positiva en cuanto a la enfermedad mínima residual (EMR) a un estado de LLA negativa en cuanto a la EMR.

El médico responsable y los factores clínicos determinarán el régimen de dosificación. Como se conoce bien en la

45 técnica médica, las dosificaciones para cualquier paciente dependen de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área de superficie corporal, edad, el compuesto particular a administrar, sexo, tiempo y vía de administración, salud general y otros fármacos administrados simultáneamente. Como se conoce bien en la técnica médica, las dosificaciones para cualquier paciente dependen de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente, el área de superficie corporal, edad, el compuesto particular a administrar, sexo, tiempo y vía de administración, salud general y otros fármacos administrados simultáneamente. Una dosis típica puede estar, por

50 ejemplo, en los intervalos establecidos en las realizaciones de la invención y los ejemplos adjuntos; sin embargo, se prevén dosis por debajo o por encima de este intervalo ejemplar, particularmente considerando los factores mencionados anteriormente. La dosis exacta dependerá del propósito del tratamiento, y un experto en la materia la podrá determinar usando técnicas conocidas. Como se conoce en la técnica y se describe anteriormente, pueden ser necesarios ajustes por edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, interacción farmacológica y la gravedad

55 de la afección, y se podrán determinar con experimentación rutinaria por parte de los expertos en la materia. El efecto terapéutico de los respectivos procedimientos o etapas del procedimiento es además detectable por todos los procedimientos y enfoques establecidos que indicarán un efecto terapéutico. Por ejemplo, se prevé que el efecto terapéutico se detecte mediante resección quirúrgica o biopsia de un tejido/órgano afectado que se analice posteriormente mediante técnicas inmunohistoquímicas (IHC por sus siglas en inglés) o inmunológicas comparables.

60 Como alternativa, también se contempla que se detecten los marcadores tumorales en el suero del paciente (si están presentes) para diagnosticar si el enfoque terapéutico ya es eficaz o no. Adicionalmente o como alternativa, también es posible evaluar la apariencia general del paciente respectivo (condición física, bienestar, disminución de la enfermedad mediada por tumores, etc.), que también le ayudará al profesional experto a evaluar si ya existe un efecto terapéutico. El experto en la materia conoce otras numerosas formas que le permitirán observar un efecto

65 terapéutico de los compuestos de la presente invención.

El término "tratamiento", tal como se usa en el presente documento, significa, en el sentido más amplio, procedimientos o aplicaciones médicas destinadas a aliviar la enfermedad. En el presente caso, la aplicación de una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana tal como se describe en el presente documento es para el tratamiento, la mejoría o la eliminación de la enfermedad de la LLA en sujetos.

5 El término "mejoría" como se usa en este documento es sinónimo de mejora. Si un sujeto que padece LLA muestra una mejoría, el sujeto está claramente mejor, entonces hay una mejora de su afección. Por ejemplo, puede ser una mejora en la afección del sujeto con ALL, si se puede lograr una estabilización de la enfermedad LLA (también denominada enfermedad estable), es decir, la enfermedad LLA ya no es progresiva. Aún mejor, la leucemia
10 linfoblástica aguda (LLA) positiva en cuanto a la EMR se convierte en un estado negativo en cuanto a la EMR.

El término "eliminación" tal como se usa en el presente documento significa la eliminación de células leucémicas del organismo de un sujeto con LLA.

15 Tal como se mencionó anteriormente, los autores de la presente invención encontraron que la cantidad de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea y/o el número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto puede usarse como marcadores de la estratificación del riesgo de estratificación para un manejo del riesgo de los sujetos que padecen LLA de precursores B y que están destinados a una terapia que comprende redirección de células T.

20 Por tanto, la presente invención se refiere al uso de una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T
25 genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

Además, la presente invención prevé un uso de una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene
30 LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde 5 o menos células blásticas por 1 µl de una muestra de LCR de dicho sujeto son indicativos de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica
35 adversa para dicho sujeto.

Asimismo, la presente invención se refiere, en otro aspecto adicional, a un uso de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia
40 que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

45 La presente invención también comprende un uso de un número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o
50 una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

Además, la presente invención proporciona un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible
55 reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto, donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea
60 contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

Asimismo, la presente invención proporciona un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible
65 reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de

antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar el número de células blásticas en una muestra LCR de un sujeto, donde un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.

5 De acuerdo con la presente invención, se entiende por el término "muestra" cualquier muestra biológica obtenida de un paciente humano que contiene polinucleótidos o polipéptidos o partes de los mismos. Las muestras biológicas incluyen fluidos corporales (como sangre, suero, plasma, orina, saliva, líquido sinovial y líquido cefalorraquídeo) y fuentes de tejido en los que se encuentran en linfocitos malignos CD19 positivos. Los procedimientos para obtener biopsias de tejidos y fluidos corporales de pacientes son bien conocidos en la técnica. En general, se prefiere como
 10 fuente una muestra biológica que incluya células mononucleares de sangre periférica (PBMC), en particular, células B y células T.

Una muestra que incluye células mononucleares de sangre periférica (PBMC), en particular, células B y células T, se toma preferentemente de la sangre periférica de un paciente humano.

15 Otras muestras preferidas son sangre entera, suero, plasma o líquido sinovial, siendo el plasma o suero los más preferidos. Sin embargo, se prefiere particularmente una muestra de sangre periférica de un paciente humano.

Una muestra más preferida aplicada en los procedimientos y usos de la presente invención es una muestra de médula ósea de un sujeto y/o una muestra de LCR de un sujeto. El experto sabe cómo obtener dichas muestras.

20 La cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea se determina por medios y procedimientos conocidos en la técnica, preferentemente de acuerdo con las enseñanzas del libro de texto "Hematopathology" Faramarz Naeim, P. Nagesh Rao, Wayne W. Grody, Academic Press, Elsevier, 2008, en particular, de acuerdo con las enseñanzas del capítulo 1, página 5, "Bone Marrow Examination" - "Bone marrow smears". Tal como se enseña
 25 en ese libro, se cuentan al menos 200 células por áreas seleccionadas al azar de un frotis de médula adecuadamente teñido y con suficientes células para calcular el recuento diferencial. En el contexto de la presente invención, en particular, se cuentan células blásticas en una muestra de médula ósea y su cantidad se determina por 200 células de médula ósea contadas.

30 El número de células blásticas en una muestra de LCR se determina por medios y procedimientos conocidos en la técnica. Normalmente, las células dentro de 1 µl de una muestra de CSF se tiñen adecuadamente para hacer que las células blásticas eventualmente presentes sean visibles y distinguibles de otras células y se cuenta el número total de células blásticas.

La presente descripción proporciona además un kit que comprende un dominio de unión a CD3 e instrucciones que
 35 indican que

(i) una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

40 (ii) donde un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

(iii) donde una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de 5 o menos células
 45 blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

(iv) donde una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible
 50 reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;

(v) donde un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana; o

55 (vi) donde una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de más de 5 células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana.

60 Dicho kit es preferentemente un kit farmacéutico. Dicho kit preferentemente puede comprender además medios para administrar dicho dominio de unión a CD3, tal como una jeringa, una bolsa de infusión, una bomba, y similares.

Ejemplos

65

ES 2 715 679 T3

Se recopilaban y analizaban los datos de tres ensayos clínicos MT103-206, MT103-211 y MT103-205 con el objetivo de tratar la LLA de precursores B.

Ensayo	Indicación	Dosis	Número del paciente
MT103-206	LLA de precursores B recidivante/refractaria en adultos	5 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 5-15 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 5-15-30 $\mu\text{m}^2/\text{d}$	36
MT103-211	LLA de precursores B recidivante/refractaria en adultos	9-28 $\mu\text{m}^2/\text{d}$	61
MT103-205	LLA de precursores B pediátrica recidivante/refractaria	5 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 15 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 30 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 15-30 $\mu\text{m}^2/\text{d}$; 5-15 $\mu\text{m}^2/\text{d}$	> 50
Cantidad de células blásticas en la médula ósea por 200 células contadas			Eventos adversos
MT103-206 al 5 %			22 % (8 de 36)
MT103-211 al 10 %			12 % (23 de 189)
MT103-205 al 20 %			<2,5 % (1 de > 50)

14-6.1.5.1.3 Incidencia de TEAE de al menos grado 3 según CTC/ al menos graves relacionados con la medicación en estudio según MedDRA SOC y PT - por dosis real recibida

Clase de órgano del sistema MedDRA Término preferido	5 µg/m ² /d (N = 3)		15 µg/m ² /d (N = 7)		5/15 µg/m ² /d (N = 21)		5/15/30 µg/m ² /d (N = 5)		En general (N = 36)	
	EAn	Pat.n Pat. %	EAn	Pat.n Pat. %	EAn	Pat.n Pat. %	EAn	Pat.n Pat. %	EAn	Pat.n Pat. %
TOTAL	7	2 (66,7%)	30	7 (100,0%)	31	11 (52,4%)	6	3 (60,0%)	74	23 (83,99%)
Infecciones e infestaciones	1	1 (33,3%)	1	1 (14,3%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	2	2 (5,6%)
Infección del sistema nervioso central	1	1 (33,3%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Sinusitis	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Trastornos de la sangre y del sistema linfático	1	1 (33,3%)	8	6 (85,7%)	7	5 (23,8%)	1	1 (20,0%)	17	13 (36,1%)
Leucopenia	0	0 (0,0%)	3	2 (28,6%)	3	2 (9,5%)	1	1 (20,0%)	7	5 (13,9%)
Linfopenia	0	0 (0,0%)	3	3 (42,9%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	3	3 (8,3%)
Trombocitopenia	1	1 (33,3%)	1	1 (14,3%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	3	3 (8,3%)
Anemia	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Coagulación intravascular diseminada	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Neutropenia	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Panцитopenia	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Trastornos del Sistema Nervioso	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	2	2 (5,6%)
Síndrome de liberación de citoquinas	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	2	2 (5,6%)
Trastornos del metabolismo y de la nutrición	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	2	2 (5,6%)
Síndrome de lisis tumoral	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	2	2 (5,6%)
Trastornos psiquiátricos	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Desorientación	0	0 (0,0%)	1	1 (14,3%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Trastornos del Sistema Nervioso	5	2 (66,7%)	3	1 (14,3%)	6	3 (14,3%)	2	2 (40,0%)	16	8 (22,2%)
Encefalopatía	2	1 (33,3%)	3	1 (14,3%)	0	0 (0,0%)	1	1 (20,0%)	6	3 (8,3%)
Temblores	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	2	2 (9,5%)	1	1 (20,0%)	3	3 (8,3%)
Ataxia	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (4,8%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)
Apraxia	1	1 (33,3%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	0	0 (0,0%)	1	1 (2,8%)

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> Amgen Research (MUnich) GmbH
 Amgen Inc.
 <120> Estratificación por riesgo de pacientes con LLA
 <130> AMG14840PCT
 <160> 23
 <170> PatentIn versión 3.5
 <210> 1
 10 <211> 498
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 15 <223> anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3
 <400> 1

```

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1                               5                               10                               15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
                20                               25                               30

Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Pro Pro
                35                               40                               45

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser Gly Ile Pro Pro
                50                               55                               60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                               70                               75                               80

Pro Val Glu Lys Val Asp Ala Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr
                85                               90                               95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
                100                               105                               110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
                115                               120                               125

Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser Ser Val
                130                               135                               140

Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr Trp Met
145                               150                               155                               160
  
```

ES 2 715 679 T3

Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln
 165 170 175
 Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly
 180 185 190
 Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
 195 200 205
 Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
 210 215 220
 Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
 225 230 235 240
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
 245 250 255
 Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser
 260 265 270
 Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr
 275 280 285
 Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 290 295 300
 Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 305 310 315 320
 Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
 325 330 335
 Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 340 345 350
 Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 355 360 365
 Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 370 375 380
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro
 385 390 395 400
 Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg
 405 410 415

ES 2 715 679 T3

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly
 420 425 430

Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly
 435 440 445

Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu
 450 455 460

Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
 465 470 475 480

Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
 485 490 495

Leu Lys

<210> 2
 <211> 1494
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19xCD3

5

10

<400> 2
 gatatccagc tgaccagtc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60
 atctcctgca aggccagcca aagtgtgat tatgatgggtg atagttattt gaactggtac 120
 caacagattc caggacagcc acccaaactc ctcatctatg atgcatccaa tctagtttct 180
 gggatccacc ccaggtttag tggcagtggtg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
 cctgtggaga aggtggatgc tgcaacctat cactgtcagc aaagtactga ggatccgtgg 300
 acgttcggtg gagggaccaa gctcgagatc aaagggtggtg gtggttctgg cggcggcggc 360
 tccggtggtg gtggttctca ggtgcagctg cagcagctctg gggctgagct ggtgaggcct 420
 gggtcctcag tgaagatttc ctgcaaggct tctggctatg cattcagtag ctactggatg 480
 aactgggtga agcagaggcc tggacaggtt cttgagtgga ttggacagat ttggcctgga 540
 gatggtgata ctaactacaa tggaaagttc aagggtaaag ccaactctgac tgcagacgaa 600
 tcctccagca cagcctacat gcaactcagc agcctagcat ctgaggactc tgcggtctat 660
 ttctgtgcaa gacgggagac tacgacggta gcccgttatt actatgctat ggactactgg 720
 ggccaagggg ccacgggtcac cgtctcctcc ggaggtggtg gatccgatat caaactgcag 780
 cagtcagggg ctgaactggc aagacctggg gcctcagtgat agatgtcctg caagacttct 840
 ggctacacct ttactaggtg cacgatgcac tgggtaaaac agaggcctgg acagggtctg 900

ES 2 715 679 T3

gaatggattg gatacattaa tcctagccgt ggttatacta attacaaatca gaagttcaag 960
gacaaggcca cattgactac agacaaatcc tccagcacag cctacatgca actgagcagc 1020
ctgacatctg aggactctgc agtctattac tgtgcaagat attatgatga tcattactgc 1080
cttgactact ggggccaagg caccactctc acagtctcct cagtcgaagg tggaagtgga 1140
ggttctgggtg gaagtggagg ttcaggtgga gtcgacgaca ttcagctgac ccagtctcca 1200
gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag gtcacatga cctgcagagc cagttcaagt 1260
gtaagttaca tgaactggta ccagcagaag tcaggcacct cccccaaaag atggatttat 1320
gacacatcca aagtggcttc tggagtcctt tatcgcttca gtggcagtggt gtctgggacc 1380
tcatactctc tcacaatcag cagcatggag gctgaagatg ctgccactta ttactgccaa 1440
cagtgagta gtaaccgct cacgttcggt gctgggacca agctggagct gaaa 1494

<210> 3
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> VH anti CD19

5

10

<400> 3

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

<210> 4
<211> 372
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> VH anti CD19

15

20

<400> 4

ES 2 715 679 T3

caggtgcagc tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaggc ctgggtcctc agtgaagatt 60
 tcctgcaagg cttctggcta tgcattcagt agctactgga tgaactgggt gaagcagagg 120
 cctggacagg gtcttgagtg gattggacag atttggcctg gagatggtga tactaactac 180
 aatggaaagt tcaagggtaa agccactctg actgcagacg aatcctccag cacagcctac 240
 atgcaactca gcagcctagc atctgaggac tctgcggtct atttctgtgc aagacgggag 300
 actacgacgg taggccgtta ttactatgct atggactact ggggccaagg gaccacggtc 360
 accgtctcct cc 372

5 <210> 5
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> VL anti CD19

10 <400> 5

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

15 <210> 6
 <211> 333
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> VL anti CD19

20 <400> 6

gatatccagc tgaccagtc tccagcttct ttggctgtgt ctctagggca gagggccacc 60
 atctcctgca aggccagcca aagtgttgat tatgatgggtg atagttattt gaactggtac 120
 caacagattc caggacagcc acccaaactc ctcatctatg atgcatccaa tctagtttct 180
 gggatccac ccaggtttag tggcagtggtg tctgggacag acttcaccct caacatccat 240
 cctgtggaga aggtggatgc tgcaacctat cactgtcagc aaagtactga ggatccgtgg 300
 acgttcgggtg gagggaccaa gctcgagatc aaa 333

ES 2 715 679 T3

5 <210> 7
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> VH anti CD3

10 <400> 7

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

15 <210> 8
 <211> 357
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> VH anti CD3

20 <400> 8

gatatacaaac	tgcagcagtc	aggggctgaa	ctggcaagac	ctggggcctc	agtgaagatg	60
tcctgcaaga	cttctggcta	cacctttact	aggtacacga	tgactgggt	aaaacagagg	120
cctggacagg	gtctggaatg	gattggatac	attaatccta	gccgtggta	tactaattac	180
aatcagaagt	tcaaggacaa	ggccacattg	actacagaca	aatcctccag	cacagcctac	240
atgcaactga	gcagcctgac	atctgaggac	tctgcagtct	attactgtgc	aagatattat	300
gatgatcatt	actgccttga	ctactggggc	caaggcacca	ctctcacagt	ctcctca	357

25 <210> 9
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> VL anti CD3

30

ES 2 715 679 T3

<400> 9

```

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1           5           10           15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20           25           30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35           40           45

Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser
50           55           60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65           70           75           80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
85           90           95

Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100           105
    
```

5 <210> 10
 <211> 318
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 10 <223> VL anti CD3

<400> 10

```

gacattcagc tgaccagtc tccagcaatc atgtctgcat ctccagggga gaaggtcacc      60
atgacctgca gagccagttc aagtgtagt tacatgaact ggtaccagca gaagtcaggc      120
acctcccca aaagatggat ttatgacaca tccaaagtgg cttctggagt cccttatcgc      180
ttcagtggca gtgggtctgg gacctcatac tctctcacia tcagcagcat ggaggctgaa      240
gatgtgcca cttattactg ccaacagtgg agtagtaacc cgctcacgtt cgggtgctgg      300
accaagctgg agctgaaa      318
    
```

15 <210> 11
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> artificial
 20 <220>
 <223> CD3 CDR-H1

<400> 11

```

Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His
25 1           5           10
    
```

<210> 12
 <211> 17
 <212> PRT
 30 <213> artificial
 <220>
 <223> CD3 CDR-H2

ES 2 715 679 T3

<400> 12

Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Asp

5 <210> 13
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 10 <223> CD3 CDR-H3
 <400> 13

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr
 1 5 10

20 <210> 14
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> CD3 CDR-L1

25 <400> 14

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn
 1 5 10

30 <210> 15
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> CD3 CDR-L2

35 <400> 15

Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
 1 5

40 <210> 16
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 45 <223> CD3 CDR-L3

<400> 16

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
 1 5

50 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> artificial
 55 <220>
 <223> CD19 CDR-H1
 <400> 17

ES 2 715 679 T3

Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr Trp Met Asn
 1 5 10

5 <210> 18
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> CD19 CDR-H2

10 <400> 18

Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 19
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> CD19 CDR-H3

20 <400> 19

Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
 1 5 10 15

25 <210> 20
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> CD19 CDR-L1

30 <400> 20

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Asn
 1 5 10 15

35 <210> 21
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> CD19 CDR-L2

40 <400> 21

Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser
 1 5

45 <210> 22
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> artificial
 <220>
 <223> CD19 CDR-L3

50 <400> 22

55 Gln Gln Ser Thr Glu Asp Pro Trp Thr
 1 5

ES 2 715 679 T3

5 <210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> Péptido espaciador

<400> 23

10 Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para estratificar el riesgo de sujetos que padecen leucemia linfoblástica aguda (LLA) de precursores B, dichos sujetos están destinados a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende
- 5 (a) determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; y/o determinar el número de células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto,
- (b) estratificar el riesgo de dicho sujeto en una de las siguientes categorías:
- 10 (i) sujetos que tienen una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;
- (ii) sujetos con 5 células blásticas o menos por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;
- (iii) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, mientras que
- 15 dichos sujetos tienen 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos;
- (iv) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos;
- (v) sujetos con más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos; o
- 20 (vi) sujetos que tienen una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dichos sujetos, mientras que dichos sujetos tienen más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dichos sujetos, donde la estratificación del riesgo permite predecir si un sujeto desarrollará o no una posible reacción neurológica adversa o la mitigación de una posible reacción neurológica adversa.
- 25 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1,
- (i) donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- 30 (ii) donde un número de 5 o menos células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- (iii) donde una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de 5 o menos
- 35 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- (iv) donde una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una
- 40 posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana;
- (v) donde un número de más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana; o
- 45 (vi) donde una cantidad inferior a aproximadamente un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea, mientras que al mismo tiempo un número de más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un mayor riesgo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana.
- 50 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde los sujetos de las categorías (v) y (vi) deben someterse a quimioterapia intratecal antes del tratamiento con una terapia que comprende redireccionamiento de las células T contra células diana.
- 55 4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde los sujetos de la categoría (i) deben someterse a un tratamiento de quimioterapia y/o cortisona antes del tratamiento con una terapia que comprende redireccionamiento de células T contra células diana, si dichos sujetos tienen una cantidad de blastos del 50 % o más.
- 60 5. Un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR) para uso en un procedimiento para tratar la LLA de precursores B en un sujeto, dicho sujeto es
- (a) un sujeto con más de 5 células blásticas por 1 μ l en una muestra de LCR de dicho sujeto,
- 65 (b) un sujeto que tiene una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto; o

(c) un sujeto que tiene una cantidad de menos de un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto y que tiene 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto.

- 5 6. El uso de acuerdo con la reivindicación 5, donde dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla es un anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3, donde dicho anticuerpo biespecífico de cadena sencilla CD19 x CD3 es preferentemente blinatumomab (AMG 103).
7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, donde dicho sujeto es un ser humano.
- 10 8. Uso de una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.
- 15 9. Uso de una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde 5 o menos células blásticas por 1 µl de una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.
- 20 10. Uso de la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.
- 25 30 11. Uso de un número de células blásticas en una muestra de LCR de un sujeto sospechoso de tener o que tiene LLA de precursores B para predecir el riesgo de dicho sujeto de desarrollar una posible reacción neurológica adversa cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T genéticamente modificada que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), donde un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.
- 35 40 12. Un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar la cantidad de células blásticas en una muestra de médula ósea de un sujeto, donde una cantidad de al menos un 20 % de células blásticas por 200 células de médula ósea contadas en una muestra de médula ósea de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.
- 45 50 13. Un procedimiento para predecir el riesgo de desarrollar una posible reacción neurológica adversa de un sujeto que tiene LLA de precursores B para dicho sujeto cuando está sometido a una terapia que comprende redireccionamiento de células T, donde dicha terapia incluye un anticuerpo biespecífico que comprende un dominio de unión a CD3 o una célula T modificada genéticamente que tiene un receptor de antígeno quimérico (CAR), que comprende determinar el número de células blásticas en una muestra LCR de un sujeto, donde un número de 5 o menos células blásticas por 1 µl en una muestra de LCR de dicho sujeto es indicativo de un riesgo reducido o nulo de una posible reacción neurológica adversa para dicho sujeto.
- 55 60 14. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11 o el procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, donde la reacción neurológica es una o más de las opciones que se seleccionan de entre el grupo que consiste en: confusión, ataxia, desorientación, disfasia, afasia, deficiencia del habla, síntomas cerebelosos, temblor, apraxia, convulsiones, convulsiones de tipo gran mal, parálisis y trastorno del equilibrio.