

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 749 446**

51 Int. Cl.:

A61K 38/20	(2006.01)
A61K 39/00	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)
C07K 16/28	(2006.01)
C07K 16/30	(2006.01)
G01N 33/50	(2006.01)
G01N 33/574	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.05.2012 PCT/EP2012/059078**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **22.11.2012 WO12156429**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2012 E 12720894 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2019 EP 2710372**

54 Título: **Recuento relativo inicial de linfocitos como biomarcador predictivo**

30 Prioridad:

17.05.2011 EP 11166403

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

20.03.2020

73 Titular/es:

**LINDIS BIOTECH GMBH (100.0%)
Am Klopferspitz 19
82152 Planegg , DE**

72 Inventor/es:

LINDHOFER, HORST

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

Observaciones:

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

ES 2 749 446 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

Recuento relativo inicial de linfocitos como biomarcador predictivo

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un procedimiento para predecir un beneficio terapéutico mejorado para un individuo con una carga tumoral antes de iniciar una terapia inmunitaria que es capaz de activar las células inmunitarias contra dicho tumor, así como a composiciones farmacéuticas para usar en este procedimiento.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los conceptos terapéuticos modernos para el tratamiento de tumores y, particularmente, conceptos terapéuticos que implican agentes moduladores inmunitarios, implican costes considerables y, a menudo efectos secundarios adversos para el paciente. Además, no sólo una, sino varias opciones para la terapia o incluso debido al mal efecto de pronóstico, la opción de no tratar activamente el tumor, sino tomar sólo cuidados paliativos del paciente deben ser considerados por el médico. Por tanto, seleccionar el concepto terapéutico más óptimo tomando en consideración los parámetros predictivos es de gran importancia.

15

20 Varios factores predictivos o de pronóstico son conocidos en la técnica y se usan por los médicos:

- criterios clínico-morfológicos: clasificación TNM, clasificación R
- criterio histopatológico: grado histológico de diferenciación
- factores moleculares relacionados con las estructuras diana de la terapia de tumores: tasa de expresión de receptores (por ejemplo Her2/neu -Trastuzumab) y el estado molecular de la mutación (mutación KRAS - cetuximab).

25

Ampliamente utilizada en el campo del diagnóstico y en la vigilancia de los efectos de los desarrollos terapéuticos, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades infecciosas, enfermedades anémicas y leucemia es la determinación del recuento de glóbulos blancos (también llamada prueba diferencial sangre). La prueba diferencial sangre mide el porcentaje de cada tipo de glóbulo blanco (también llamados leucocitos). Este recuento de glóbulos blancos completos, que incluye un recuento de linfocitos (ALC y RLC), es parte del diagnóstico normal y es una prueba de bajo coste, no sofisticado y universalmente disponible. Cinco tipos de leucocitos normalmente aparecen en la sangre, es decir, neutrófilos (valores normales de adultos: 40% a 60%), linfocitos (15% a 40%), monocitos (2% a 8%), eosinófilos (1% a 4%), basófilos (0,5% a 1%).

30

35 En general, todo tipo de estrés agudo y todo tipo de infecciones aumentan el número de leucocitos. Se observan títulos de leucocitos anormalmente altos, entre otros, durante la inflamación, reacciones inmunológicas y leucemia. Los cambios en los resultados de la prueba diferencial de sangre son causados por el aumento de un tipo de glóbulos de sangre que provoca una disminución en la proporción de los tipos restantes de glóbulos blancos.

40 De este modo, un RLC aumentado por encima de los intervalos normales puede ser debido a una etapa aguda de infección viral, enfermedad del tejido conectivo, hipertiroidismo, enfermedad de Addison y esplenomegalia) (Tefferi et al, Mayo Clin Proc 80: 923, 2005). Además, es normal que los niños menores de 2 años tengan un RLC incrementado. En el lado opuesto, un RLC disminuido podría atribuirse a, por ejemplo el SIDA, supresión de la médula ósea, anemia aplásica, neoplasias, esteroides, hiperfunción adrenocortical, trastornos neurológicos (esclerosis múltiple, miastenia gravis, síndrome de Guillain Barre) (Tefferi et al., Mayo Clin. Proc 80: 923, 2005), la administración de compuestos esteroides y la inflamación crónica que reflejan una supresión del sistema inmunitario causada por dichas enfermedades.

45

Teniendo en cuenta esto, la prueba diferencial de la sangre y los cambios de la proporción de los componentes individuales de los glóbulos blancos pueden entenderse como un procedimiento muy adecuado para monitorizar el estado inmunológico de un individuo que refleja la relación de factores inmunoestimuladores e inmunosupresores.

50

En vista de la importancia de los parámetros inmunológicos en el desarrollo del cáncer y la progresión tumoral, el documento US 2010/0028932 y la publicación subyacente enseñan que los recuentos absolutos de la línea base de linfocitos (ALC) antes del inicio del tratamiento influyen significativamente en la supervivencia global de los pacientes tumorales. Se proporcionan procedimientos para el impacto del pronóstico de ALC y AGC (recuentos absolutos de granulocitos) sobre la supervivencia global de los pacientes con tumores independientes de cualquier tratamiento médico particular.

55

60 Un procedimiento importante para la activación de las células inmunitarias es la administración de anticuerpos que están dirigidos contra un antígeno específico de tumor. Un ejemplo para el uso beneficioso de anticuerpos es la administración de anticuerpos biespecíficos trifuncionales (Triomab) que se caracterizan en que se unen al mismo tiempo (i) al complejo del receptor de células T de una célula T, (ii) a los antígenos asociados a tumores en una célula tumoral, y (iii) a través de la porción Fc del anticuerpo trifuncional, a células positivas del receptor Fcγ1, IIa y/o III para la inducción de inmunidad antitumoral en seres humanos y animales. Se describen, por ejemplo, en el documento US 6.551.592. Es de conocimiento que las células T citotóxicas estimuladas por la interacción de CD28-

65

- B7 desencadenante y coestimulador anti-CD3 (es decir, a través de la interacción de las células T y células accesorias positivas del receptor Fc γ activantes) son las células efectoras más importantes en la eliminación de células diana malignas debido a los anticuerpos biespecíficos trifuncionales. Además, es bien aceptado que el brazo de unión anti-CD3 mitogénico de anticuerpos trifuncionales junto con señales coestimuladoras (liberadas por células accesorias) evoca la activación de células T, posteriormente seguido de la estimulación de células T prominentes y/o la proliferación de células T. Estos cambios hematopoyéticos son fundamentales para la actividad de los anticuerpos anti-CD3 mitogénicos, tal como se demuestra por ejemplo por Schneider et al, Stem Cells. 15: 154, 1997.
- 10 Sin embargo, el documento US 2010/0028932 no proporciona ninguna evidencia sobre el papel que RLC y RGC podrían desempeñar en el desarrollo de enfermedades tumorales ni describe factores predictivos para usar beneficiosamente intervenciones terapéuticas que estimulan claramente el brazo de células T de respuestas inmunitarias mediadas por células contra el cáncer.
- 15 El documento WO 2008/040045 da a conocer un procedimiento para predecir el posible resultado de una inmunoterapia del cáncer que comprende la agrupación de individuos en un grupo que tiene un número de linfocitos por encima de un nivel de linfocitos de la línea base y un grupo que tiene un número de linfocitos por debajo de o igual a un nivel de linfocitos de la línea base antes de iniciar dicha inmunoterapia.
- 20 FUMAGALLI et al., JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 26, no. 5, páginas 394-402 da a conocer que el control del recuento de linfocitos representa un biomarcador de la respuesta del huésped al tratamiento subcutáneo con IL-2, ya que predice la supervivencia global en pacientes con cáncer avanzado.
- STRÖHLEIN et al., JOURNAL OF EXPERIMENTAL Y CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 28, página 18, describe que la medición de los linfocitos T antes y después de la inmunoterapia con anticuerpos trifuncionales muestra un aumento en el recuento de linfocitos T de más de 6 veces en muestras de sangre derivadas de pacientes con cáncer.
- El documento EP 2 241 576 describe el uso de anticuerpos biespecíficos trifuncionales para el tratamiento de pacientes con cáncer.
- 30 SEIMETZ et al., CANCER TREATMENT REVIEWS, vol. 36, no. 6, páginas 458-467, describe el desarrollo y aprobación del anticuerpo trifuncional Catumaxomab como una inmunoterapia contra el cáncer dirigida.
- 35 Un objetivo de la presente invención es proporcionar factores predictivos fiables para el beneficio de una intervención de pacientes con tumor mediante una terapia inmunitaria que es capaz de activar las células inmunitarias

CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

- 40 Este objetivo se resuelve mediante un procedimiento para predecir un beneficio terapéutico mejorado para un individuo con una carga tumoral antes de iniciar una terapia inmunitaria con un anticuerpo biespecífico trifuncional capaz de unirse a una célula T a través de CD3; unirse a un antígeno diana asociado a un tumor y unirse a través de su porción Fc a células positivas del receptor Fc γ de tipo I, IIa y/o III y capaz de activar células inmunitarias contra un tumor que contiene dicho antígeno diana asociado a un tumor, comprendiendo dicho procedimiento
- 45 a. determinar el recuento relativo inicial de linfocitos (RLC) en una muestra de sangre proporcionada de dicho individuo antes de iniciar dicha terapia inmunitaria mediante el cálculo del porcentaje de linfocitos en relación con el número absoluto de leucocitos que comprenden neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos;
- 50 b. correlacionar de manera positiva dicho beneficio terapéutico mejorado con valores crecientes de RLC iniciales de más del 11%, en el que dicho antígeno diana asociado a un tumor se selecciona del grupo que consiste en Her2/neu, CD20, EpCAM y GD2.
- Además se proporciona una composición farmacéutica que comprende
- 55 - una cantidad farmacéuticamente eficaz de un anticuerpo biespecífico trifuncional capaz de unirse a una célula T a través de CD3; unirse a un antígeno diana asociado a un tumor y unirse a través de su porción Fc a células positivas del receptor Fc γ de tipo I, IIa y/o III y que es capaz de activar células inmunitarias contra un tumor que contiene dicho antígeno diana asociado a un tumor,
- y portadores y/o excipientes farmacéuticamente aceptables,
- 60 para usar en un procedimiento de tratamiento de individuos que sufren de dicho tumor con dicho anticuerpo biespecífico trifuncional, en el que dichos individuos se seleccionan antes de dicho tratamiento mediante el siguiente procedimiento para predecir un beneficio terapéutico mejorado para dicho individuo con dicho tumor, que comprende
- a. proporcionar una muestra de sangre de dicho individuo antes de iniciar dicha terapia inmunitaria;
- 65 b. determinar el recuento relativo inicial de linfocitos (RLC) en dicha muestra de sangre mediante el cálculo del porcentaje de linfocitos en relación con el número absoluto de leucocitos que comprenden neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos;

correlacionar de manera positiva dicho beneficio terapéutico mejorado con valores crecientes de RLC iniciales de más del 11%, en el que dicho antígeno diana asociado a un tumor se selecciona del grupo que consiste en Her2/neu, CD20, EpCAM y GD2

- 5 Otras formas de realización de la invención se describen en las reivindicaciones dependientes y la siguiente descripción en combinación con las figuras adjuntas y la tabla.

Los presentes inventores describen aquí por primera vez una correlación significativamente fuerte de un RLC y RGC iniciales de la línea base con la predicción de una supervivencia global de pacientes con cáncer tras el tratamiento con una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente que es capaz de activar células inmunitarias contra un tumor. Este hallazgo se ejemplifica mediante el tratamiento con un anticuerpo que es capaz de estimular células T y/o de la proliferación de células T, a saber, un régimen de tratamiento a base de Triomab (aquí anti-EpCAM x anti-CD3 Catumaxomab), que ha permitido a los inventores generalizar el hallazgo a más anticuerpos biespecíficos trifuncionales capaces de activar células inmunitarias contra un tumor mediante la estimulación de células T y/o la proliferación de células T. El procedimiento de la invención refleja por primera vez la importancia de la cantidad de RLC y RGC para los estados de predicción de la supervivencia de los pacientes con una carga tumoral cuando se someten a una terapia inmunitaria que activa las células inmunitarias independientemente del tipo de agente utilizado para dicha terapia de estimulación inmunitaria.

20 La Tabla y las Figuras muestran:

Tabla 1: Anticuerpos biespecíficos recombinantes desarrollados para la terapia contra el cáncer celular y capaz de ser utilizados en los procedimientos de la invención.

Figura 1: Análisis de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier para los pacientes con un valor de RLC de 11% o más. Se consideran los siguientes detalles:

25 - Tiempo hasta la progresión: meses

- Censurado con supervivencia de paciente: $y = 1/n$

- Código censor: 1

- Agrupados por RLC inicial $> 11\%$ ($P < 0,05$, prueba log-rank o de Wilcoxon)

Figura 2: Análisis de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier para los pacientes con un valor de RLC de 30 14% o más. Se consideran los siguientes detalles:

- Tiempo hasta la progresión: meses

- Censurado con supervivencia de paciente: $y = 1/n$

- Código censor: 1

- Agrupados por RLC inicial $> 12\%$ ($P < 0,05$, prueba log-rank o de Wilcoxon) o agrupados por RLC inicial $> 14\%$ ($P < 0,05$, prueba log-rank o de Wilcoxon)

Figura 3: Ajuste bivariante de la supervivencia (en meses) mediante RLC (en porcentaje de LY)

Figura 4: Correlación bivariante de la supervivencia (en meses) y recuento de granulocitos en porcentaje

Figura 5: Regresión logística en % del recuento de linfocitos en las categorías $> 11\%$, $> 12\%$ y $> 14\%$

Figura 6: Ajuste logístico de LY > 12 después de MESES

40 **Figura 7:** Ajuste logístico de LY > 14 después de MESES

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Tal como se utiliza en el presente documento, "recuento absoluto de linfocitos" (ALC) se refiere al número total de 45 linfocitos por unidad de sangre completa o células de sangre. Una unidad puede ser, por ejemplo, un litro, mililitro o microlitro. ALC se puede determinar utilizando un procedimiento de recuento de células que permita la identificación y cuantificación del número total de linfocitos en una muestra de células. El procedimiento de recuento celular puede incluir, sin limitación, clasificación de células automatizada fluorescente (FACS), inmunomarcaje y tinción con hematoxalina y eosina (H y E), así como cualquier instrumento clínico capaz de contar con precisión el número de 50 linfocitos en una muestra de sangre. Dicho instrumento es, por ejemplo, el sistema Beckman Coulter GEN S Cell. Las muestras con células inmunomarcadas pueden contarse manualmente por un experto en la técnica usando un microscopio con una ampliación suficiente para permitir la visualización de células inmunomarcadas frente a células no inmunomarcadas. El inmunomarcaje se refiere a la detección de un marcador de superficie celular que es característico de un linfocito, tal como la tinción de anticuerpo marcado para marcadores de superficie celular 55 descritos anteriormente. Las muestras con células teñidas con H y E también pueden contarse manualmente por un experto en la técnica usando un microscopio con una ampliación suficiente para permitir la visualización de la apariencia física de un linfocito.

Un procedimiento de diagnóstico médico conocido es examinar una muestra seca, teñida de sangre en un 60 portaobjetos de microscopio para determinar las proporciones relativas de estos cinco tipos normales de glóbulos blancos, leucocitos: neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos, así como la concentración de cualquier célula anormal. Dicho procedimiento se refiere como recuento diferencial de glóbulos blancos y se describe en Miale, JB, "Laboratory Medicine - Hematology", pág. 822-830, 1126, 1127 y 1130, C.V. Mosby Company, St. Louis, Mo. (1967).

65

Los procesos automatizados y aparatos de sistema de flujo automatizados, por lo tanto, se han desarrollado para facilitar la carga del recuento diferencial de glóbulos blancos, tal como se describe en las patentes de los Estados Unidos. Nos.3,741,875 y 4,099,917. Estos son procedimientos citoquímicos para identificar específicamente y etiquetar tipos de células individuales.

5 El término "recuento relativo de linfocitos" (RLC) se refiere al porcentaje de linfocitos en relación con el número absoluto de leucocitos que comprenden neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos. Por lo tanto, con el fin de determinar el valor de RLC, debe medirse la proporción relativa de los 5 tipos de células indicados anteriormente y determinarse su porcentaje del número total de leucocitos. El porcentaje se calcula como recuento
10 absoluto de linfocitos/recuento total de glóbulos blancos.

El término "recuento relativo de granulocitos" (RGC) se refiere al porcentaje de granulocitos en relación con el número absoluto de leucocitos que comprenden granulocitos neutrófilos (también referidos aquí como "granulocitos" o "neutrófilos"), monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos. Por lo tanto, con el fin de determinar el valor de RGC,
15 debe medirse la proporción relativa de los 5 tipos de células indicados anteriormente y determinarse su porcentaje del número total de leucocitos. El porcentaje se calcula como recuento absoluto de granulocitos/recuento total de glóbulos blancos.

El intervalo normal absoluto de la línea base de linfocitos de individuos sanos sin enfermedades infecciosas evidentes u otras alteraciones inmunopatológicas transitorias o crónicas:

Linfocitos	número/mm ³
Hombres	1.000-4.000 (15-40%)
Mujeres	1.000-4.800 (15-50%)
Embarazo	1.300-5.200 (15-50%)

La determinación de glóbulos blancos (WBC) es por lo general mediante analizadores de hematología que producen datos rápidos y fiables sobre el recuento de sangre, mientras que al mismo tiempo ofrecen información de cribado
25 en el recuento diferencial de la sangre (analizador de hematología de, por ejemplo Cell-Dyn® 1700CS de Abbott Diagnostics ; Petani et al, Clinical Chemistry 43: 1085-1088, 1997 o contador Coulter Modelo S o Z2; Peng et al, Int J. Lab Hematol 29 (5): 361-8; 2007). Resumiendo, los valores normales de línea base de RLC varían del 15% al 50%.

30 Los inventores han encontrado que estos intervalos de valores diferentes a normales de RLC y RGC deberían tenerse en cuenta para consideraciones adicionales con individuos destinados a un tratamiento con una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente que es capaz de activar células inmunitarias contra un tumor. Un ejemplo ejemplar para dicho tratamiento de activación inmunitaria son anticuerpos que son capaces de estimular células T y/o la proliferación de células T, específicamente y preferentemente una terapia con anticuerpos biespecíficos
35 trifuncionales.

Tal como se usa en el presente documento, "un agente que es capaz de activar células inmunitarias contra un tumor" se refiere a reactivos para estimular el propio sistema inmunitario del organismo para combatir una enfermedad tumoral. Incluido en el presente documento se encuentran agentes inmunoterapéuticos activos,
40 composiciones o productos con actividades inmunomoduladoras. Dichos agentes incluyen sustancias activadoras de células inmunitarias, tales como linfocitos T, linfocitos B, monocitos, macrófagos, células dendríticas, etc. a través de por ejemplo, contactos mediados por receptor, citoquinas u otros mecanismos

Los inventores han encontrado sorprendentemente que la determinación de RLC permite una predicción fiable de un beneficio terapéutico mejorado para un paciente con una carga tumoral antes de iniciar una terapia inmunitaria capaz de activar células inmunitarias. El término "beneficio terapéutico" se ha de entender como el período de tiempo del paciente para sobrevivir a la enfermedad tumoral después de dicho tratamiento inmunológico. Los inventores han encontrado que dicho beneficio terapéutico mejorado se correlaciona positivamente con valores de RLC iniciales crecientes mayores que el 11%. Cuanto mayor sea el valor de RLC inicial, más alta será la perspectiva
45 del paciente de sobrevivir al tratamiento inmunoestimulante de tumores. Dependiendo del paciente individual y su enfermedad o enfermedades y de su situación inmunológico general, el límite inferior del valor de RLC inicial es del 11%. Los valores más altos de RLC de, por ejemplo, del 12 al 20%, del 12 al 19%, del 12 al 15%, del 20 al 25%, del 12 al 50% o incluso del 12 al 70% identifican pacientes con un beneficio terapéutico mejorado, es decir, un tiempo de supervivencia prolongado después de haber recibido dicho tratamiento inmunológico. Los límites fronterizos inferiores identificados anteriormente se pueden combinar con cualquiera de los límites superiores como se definen
50 aquí anteriormente.

Los inventores han encontrado sorprendentemente que la determinación de RLC inicial permite una predicción fiable de un beneficio terapéutico mejorado para pacientes con una carga tumoral antes de iniciar una terapia inmunitaria capaz de activar las células inmunitarias. El término "beneficio terapéutico" se ha de entender como el período de tiempo del paciente para sobrevivir a la enfermedad tumoral después de dicho tratamiento inmunológico. Los inventores han encontrado que dicho beneficio terapéutico mejorado se correlaciona positivamente con valores de
60

RLC iniciales crecientes mayores que el 11%, en una realización de igual o mayor que el 11%. Cuanto mayor sea el valor de RLC inicial, más alta será la perspectiva del paciente de sobrevivir al tratamiento inmunoestimulante de tumores. Los valores más altos de RLC de, por ejemplo, del 12 al 20%, del 12 al 19%, del 12 al 15%, del 20 al 25%, del 12 al 50% o incluso del 12 al 70% identifican pacientes con un beneficio terapéutico mejorado, es decir, un tiempo de supervivencia prolongado después de haber recibido dicho tratamiento inmunológico. Los límites fronterizos inferiores identificados anteriormente se pueden combinar con cualquiera de los límites superiores como se definen aquí anteriormente. Debido a la variabilidad de la situación inmunológica general entre los pacientes individuales, las figuras descritas en este documento (antes y después) con respecto a los valores de RLC y RGC iniciales deben entenderse como que se encuentran dentro de ciertos intervalos que son mejores para expresar mediante el término "aproximadamente".

Los inventores también han encontrado que los valores de RGC iniciales se correlacionan negativamente con el beneficio terapéutico. Cuanto mayor sea el RGC inicial, menor será el tiempo de supervivencia del paciente después de haber recibido dicho tratamiento inmunológico. Generalmente, el valor de RGC inicial es de entre aproximadamente 80 y 100%. Por lo tanto, también el valor de RGC inicial se puede utilizar como un marcador predictivo fiable para determinar el período de tiempo del paciente para sobrevivir a la enfermedad tumoral después de dicho tratamiento inmunológico.

En una realización adicional de la invención, se describen parámetros predictivos para preseleccionar individuos que sufren de una carga tumoral, tanto si obtendrán como si no un beneficio terapéutico a partir de un tratamiento por una cantidad farmacéuticamente eficaz de un agente que es capaz de activar células inmunitarias contra dicho tumor. Debido a los altos costes de los tratamientos de modulación del sistema inmunitario, una cuidadosa selección de los pacientes que probablemente obtendrán un beneficio suficiente del tratamiento es de suma importancia.

Los inventores han encontrado que aquellos individuos con una carga tumoral se pueden preseleccionar como no adecuados para dicho tratamiento inmunológico si su valor de RLC inicial está por debajo de un rango del 11%.

Los inventores también han encontrado que los individuos con una carga tumoral se pueden preseleccionar como no adecuados para dicho tratamiento inmunológico si su valor de RGC inicial está por encima del 80%. Dicho valor puede diferir de un paciente a otro y puede ser del 80%, 82%, 83%, 84% o 85%. Preferiblemente, dicho valor frontera de RGC inicial es del 80%. Por lo tanto, existe una correlación negativa del beneficio terapéutico mejorado con dicho valor de RGC inicial. Cuanto mayor sea dicho RGC inicial, menores serán las posibilidades del paciente de sobrevivir al tumor después de dicho tratamiento inmunológico.

Los valores de RGC y RLC iniciales discutidos en el presente documento se pueden usar independientes entre sí como posibles marcadores para la predicción de un beneficio terapéutico mejorado para un individuo con una carga tumoral antes de iniciar una terapia inmunitaria que es capaz de activar las células inmunitarias contra dicho tumor. En una realización adicional de la invención, estos posibles marcadores se pueden combinar con el fin de mejorar aún más y refinar dichas posibles conclusiones.

Tal como puede observarse a partir de la presente descripción de la invención, se mejora la posibilidad de los pacientes con recuentos elevados de linfocitos. Por lo tanto, es un beneficio para el individuo a tratar aumentar los recuentos de linfocitos antes del inicio de la terapia inmunitaria. En una realización de la invención, el paciente será tratado previamente antes de iniciar dicha terapia inmunitaria con el fin de elevar dichos recuentos de linfocitos. Dicho tratamiento previo puede incluir la administración de linfocitos o la administración de fármacos que aumentan los linfocitos, incluyendo IL-2, timopentina o una combinación de los mismos. Otras opciones para aumentar el número de linfocitos son:

- Infusiones de anticuerpos para prevenir los efectos inhibidores de CTLA-4
- Infusiones de anticuerpos para bloquear las interacciones PD-L1-PD-1 y rejuvenecer las células T agotadas
- Infusiones de anticuerpos para aumentar las señales de 41BB
- Administración de citoquinas, por ejemplo IL-7, IL-12, IL-15 o IL-21
- Bloqueo o inhibición de antagonistas de citoquina, por ejemplo, TGF- β
- Los inmunoestimulantes Zadaxin y β -glucanos

DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA DE LA INVENCION CON RESPECTO AL TRATAMIENTO CON ANTICUERPOS

En una realización particularmente preferida de la invención, los pacientes con RLC iniciales crecientes que varían entre aproximadamente 12-50% de beneficio (es decir, tienen un tiempo mejorado de supervivencia) a partir de un tratamiento con anticuerpos que son capaces de estimular las células T y/o proliferar las células T, específicamente y preferentemente a partir de terapia con anticuerpos Triomab. En otras realizaciones preferidas de la invención, los valores de RLC aumentan entre intervalos de aproximadamente el 11 al 40%, del 11 al 30%, del 11 al 20%, mientras que el límite inferior de los valores de RLC es del 11%, indicando el aumento de los valores de RLC iniciales una mejora en el tiempo de supervivencia del paciente después de dicho tratamiento inmunológico con dichos anticuerpos.

65

Específicamente para los pacientes que no sufren de enfermedades secundarias, como una etapa aguda de la infección viral, una enfermedad del tejido conectivo, hipertiroidismo, enfermedad de Addison o esplenomegalia acompañados por cambios inmunopatológicos con un aumento de RLC (> 50%), los valores de RLC iniciales de entre 11 a 50% se utilizarán para la identificación de individuos que tienen un buen pronóstico para la mejora del tiempo de supervivencia global y para un beneficio clínico mejorado.

Valores de RGC iniciales crecientes del 80% al 100% proporcionan un factor predictivo peor de supervivencia para el paciente a tratar de acuerdo con la invención. Por lo tanto, ya antes del inicio de la terapia, el RGC inicial y el RLC inicial representan un valor predictivo positivo y negativo, respectivamente, que permite una estimación bien definida de si los pacientes se beneficiarán de las intervenciones terapéuticas con anticuerpos capaces de estimular células T y/o de la proliferación de T, específicamente por anticuerpos biespecíficos trifuncionales.

Se ha proporcionado la prueba de concepto de la presente invención para el anticuerpo Catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3), que pertenece al grupo de los anticuerpos biespecíficos trifuncionales que se caracterizan por las siguientes características:

- (a) la unión a una célula T a través de CD3 y activación de dicha célula T;
- (b) la unión a un antígeno diana asociado a un tumor; y
- (c) la unión a través de su porción Fc a células positivas del receptor Fcγ tipo I, IIa y/o III y el inicio de la producción de citoquinas o señales coestimuladoras o una combinación de los mismos y activación de este modo de células T.

Los antígenos diana asociados a tumores que se pueden usar incluyen los antígenos diana EpCAM, HER2/neu, GD2, y CD20 asociados con tumores epiteliales, adenocarcinomas, carcinomas de colon, carcinomas de mama, carcinomas ováricos, carcinomas de los pulmones, y tumores de garganta, nariz y oído, así como con tumores no epiteliales, tales como las leucemias y los linfomas y los tumores inducidos por virus, tales como tumores hepáticos o carcinomas del cuello uterino.

Los antígenos asociados a tumores descritos anteriormente están asociados con o son específicos para tumores particulares. Por ejemplo, EpCAM se asocia típicamente con adenocarcinomas, Her2/neu con carcinomas de mama, pero también con cáncer de colon, pulmón, gástrico, de páncreas y de ovario, CD20 con linfomas de células B, tales como el linfoma no Hodgkin o leucemia linfática crónica, GD2 con melanomas.

Según la invención, los anticuerpos biespecíficos trifuncionales intactos heterólogos (Triomab) se utilizan en la invención. Estos anticuerpos están intactos, es decir, tienen una porción Fc funcional y deben ser heterólogos de naturaleza, es decir, deben consistir en cadenas pesadas de inmunoglobulina de diferentes subclases (combinaciones de subclases, también fragmentos) y/u origen (especies).

La activación de las células positivas de receptores Fcγ por Triomab depende de la subclase o combinación de subclases, respectivamente, de Triomab. Como se ha demostrado en experimentos in vitro, por ejemplo, los anticuerpos biespecíficos trifuncionales de la combinación de subclase IgG2a de ratón/IgG2b de rata son capaces de unirse simultáneamente a y activar las células positivas de receptores Fcγ que conducen a la regulación por incremento y la formación (expresión), respectivamente, de antígenos coestimuladores, tales como CD40, CD80, o CD86, en la superficie celular de dichas células.

Aunque los anticuerpos biespecíficos trifuncionales al mismo tiempo se unen a y activan la célula T a través de uno de los brazos de unión (por ejemplo, a CD3 o CD2), las señales coestimuladoras derivadas de las células positivas del receptor Fcγ unidas a la porción Fc del anticuerpo biespecífico trifuncional pueden transferirse a la célula T, es decir, sólo la combinación de la activación de células T a través de un brazo de unión del anticuerpo biespecífico trifuncional y la transferencia concomitante de señales coestimuladoras de la célula positiva del receptor Fcγ a la célula T da lugar a una activación efectiva de células T.

La unión de los anticuerpos Triomab tiene lugar preferiblemente a través de CD3, CD2, CD4, CD5, CD6, CD8, CD28 y/o CD44 a la célula T, lo más preferido a través de CD3. Las células positivas de los receptores Fcγ llevan al menos un receptor Fcγ I, IIa, o III.

Los anticuerpos empleados según la invención son capaces de unirse a monocitos, macrófagos, células dendríticas, células "asesinas naturales" (células NK) y/o neutrófilos activados que son todas células positivas del receptor Fcγ 1.

Los anticuerpos utilizados de acuerdo con la invención conducen a una inducción o aumento de la expresión de CD40, CD80, CD86, ICAM-1 y/o LFA-3 como antígenos coestimuladores y/o la secreción de citoquinas por la célula positiva de receptores Fcγ. Las citoquinas son preferiblemente IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12 y/o TNF-[alfa].

La unión a la célula T tiene lugar mediante el complejo del receptor de células T de la célula T.

Se prefieren los anticuerpos trifuncionales con el siguiente grupo de combinaciones de isotipos en su región Fc: IgG2b de rata/IgG2a de ratón,

IgG2b de rata/IgG2b de ratón,
 IgG2b de rata/IgG1 humana,
 [VH-CH1, VL-CL] de ratón-IgG1 humana/[VH-CH1, VL-CL] de rata-IgG1 humana-[bisagra]-IgG3*-[CH2-CH3]
 humana,

5 en las que * = alotipos caucásicos G3m (b+g) = no unión a la proteína A.

Preferiblemente, dicho anticuerpo biespecífico trifuncional es un anticuerpo anti-antígeno diana asociado a tumor x anti-CD3 que se une a receptores de Fcγ de tipo I/IIa/III con la combinación de isotipos de IgG2b de rata/IgG2a de ratón.

10

Los anticuerpos son anticuerpos intactos monoclonales, quiméricos, recombinantes, sintéticos, semisintéticos o modificados químicamente con las especificidades indicadas en las reivindicaciones.

15 La preparación de anticuerpos monoclonales originarios preferiblemente de mamíferos, por ejemplo, procedimientos, como por ejemplo se describe en Köhler y Milstein (Nature 256 (1975), 495), en Harlow y Lane (Antibodies, A Laboratory Manual (1988), Cold Spring Harbor) o en Galfré (Meth. Enzymol. 73 (1981), 3). Además, es posible preparar los anticuerpos descritos mediante la tecnología del ADN recombinante de acuerdo con técnicas obvias para el experto en la técnica (véase Kurucz et al, J. Immunol 154 (1995), 4576; Hollinger et al, Proc Natl. Acad. Sc. USA. 90 (1993), 6444). Los anticuerpos utilizados en el presente procedimiento pueden ser diseñados y fabricados
 20 por una persona experta en la técnica sin una gran carga. Por ejemplo, Greenwood et al. revelan el intercambio de dominios de inmunoglobulina individuales (por ejemplo CH2) mediante una técnica de clonación adecuada. Mediante el uso de esta técnica de clonación, se consiguen combinaciones como [VH-CH1, VL-CL] de ratón-IgG1 humana/[VH-CH1, VL-CL] de rata-IgG1 humana-[bisagra]-IgG3*-[CH2-CH3] humana, en las que * = alotipos caucásicos G3m (b + g) = no unión a la proteína A.

25

Resumiendo, los presentes inventores han sido capaces de demostrar de manera convincente que valores de RLC crecientes en el inicio de la terapia predicen un mayor tiempo de supervivencia para pacientes con cáncer antes de iniciar una terapia inmunitaria que es capaz de activar células inmunitarias contra dicho tumor, siendo dicha terapia inmunitaria por ejemplo una terapia con anticuerpos biespecíficos trifuncionales que estimulan la inducción de células T y/o la proliferación de células T. El control de la enfermedad y la supervivencia tras el tratamiento se asocia con RLC. Por consiguiente, la supervivencia de los pacientes muestra una correlación positiva estadísticamente significativa con RLC. Los pacientes con RLC crecientes que van del 11 - 50%, preferiblemente del 11 - 40%, más preferiblemente del 11 - 30% o del 11 - 20%, y un límite inferior de entre un intervalo del 11-15% (incluyendo 12%, 13%, 14 %, 15%) mostraron una supervivencia global significativamente aumentada. Por lo tanto, ya antes del inicio
 30 de la terapia, el RLC inicial representa un valor de marcador predictivo y de pronóstico positivo que permite una estimación bien definida de si los pacientes se beneficiarán de las intervenciones terapéuticas con, por ejemplo, construcciones de anticuerpos capaces de estimular respuestas proliferativas de células T.

35

EJEMPLO

40

Se observó que el tratamiento con Catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3) de pacientes con carcinomatosis peritoneal (PC) de cánceres positivos de EpCAM era clínicamente eficaz en estudios de fase I y II y fue aprobado en la UE para el tratamiento de la ascitis malignos (Ströhlein y Heiss, J. Surg Oncol 100: 329, 2009; Heiss et al, Int J. Cancer 127: 2209, 2010).

45

Procedimientos

Se evaluó una población agrupada de 17 pacientes con PC en una investigación y un estudio en fase I/II con el tratamiento con Catumaxomab para los recuentos RLC y absoluto ALC de linfocitos, recuentos relativo (RGC) y absoluto (AGC) de granulocitos antes de la terapia con Catumaxomab. Se utilizaron los siguientes procedimientos estadísticos: aproximación lineal, regresión logística, curvas de Kaplan-Meier, log-rank y pruebas de Wilcoxon.

50

Resultados

55 La supervivencia global de los pacientes con PC mostró una correlación positiva con el RLC inicial de aproximadamente 11% (P <0,05, log-rang o prueba de Wilcoxon) tras la terapia con Catumaxomab. En cambio, los recuentos ALC inicial o de granulocitos relativo y absoluto no mostraron ninguna correlación estadísticamente significativa con una supervivencia global de pacientes con PC. Por lo tanto, se identificó el RLC inicial como un potencial parámetro de pronóstico y predictivo para un control de la enfermedad superior y supervivencia después
 60 del tratamiento con Catumaxomab. El RLC puede usarse como un biomarcador para indicar un estado inmune adecuado para la terapia con Triomab, tal como Catumaxomab.

Descripción de pacientes con carcinomatosis peritoneal (PC)

Pacientes	Pacientes con tumor primario (pt)*	Pt supervivientes $y = 1/n$	MESES	Respuestas	Leucocitos	RLC	ALC	RGC	AGC
TC	Carcinoma gástrico	0	1,3	0	15	2	0,3 0,93	85	12,75
KG	Carcinoma de ovario	0	21,7	1	7,8	12	6 1,08	70	5,46
ME	Cáncer de origen primario desconocido	0	30,0	1	6,8	16	8 1,23	81	5,508
JK	Carcinoma gástrico	0	7,1	1	5,6	22	2 1,11	60	3,36
SJ	Carcinoma gástrico	0	19,9	1	4,3	26	8 1,89	62	2,666
PR	Carcinoma gástrico	0	7,3	1	7,9	24	6 2,62	70	5,53
WH	Carcinoma gástrico	1	8,4	1	10,5	25	5 1,40	61	6,405
HP	Carcinoma gástrico	0	7,4	1	7,8	18	4 2,01	75	5,85
JH	Carcinoma de ovario	0	5,1	1	6,5	31	5 1,17	51	3,315
ME2	Cáncer de origen primario desconocido	0	31,7	1	6,2	19	8 0,71	72	4,464 10,11
SR	Carcinoma de mama	0	1,4	0	11,9	6	4 0,51	85	5
SR2	Carcinoma de ovario	0	9,6	0	4,7	11	7 1,15	78	3,666
FH	Carcinoma branquial	0	4,4	0	10,5	11	5 0,43	80	8,4
HC	Carcinoma gástrico	0	1,0	0	7,2	6	2 1,76	86	6,192 17,05
WE	Carcinoma gástrico	0	3,0	0	19,6	9	4 0,10	87	2
HF	Carcinoma de intestino delgado	0	4,0	0	10,7	1	7 1,27	54	5,778
FG	Carcinoma de colon	0	3,0	0	11,6	11	6	83	9,628

- 5 - Los pacientes con carcinomatosis peritoneal e inmunoterapia intraperitoneal con el anticuerpo trifuncional catumaxomab
 - Respuestas: 1 = enfermedad estable, regresión parcial o regresión completa de la enfermedad de cáncer/ 0 = enfermedad progresiva
 - Leucocitos G/l
- 10 - RLC = recuento relativo inicial de linfocitos analizado mediante prueba de sangre diferencial con sangre periférica venosa sacada antes de la terapia
 - ALC = recuento absoluto inicial de linfocitos
 - RGC = recuento relativo inicial de granulocitos analizado mediante prueba de sangre diferencial con sangre periférica venosa sacada antes de la terapia
- 15 - AGC = recuento absoluto inicial de granulocitos

Resumen estadístico

Grupo	Número de pacientes	Censurados respecto al número	Media	Error estándar
0	8	0	3,46667	0,9799
1	8	1	17,3528	3,71275
combinado	16	1	10,6267	2,60604

Cuantil

Grupo	Mediana del tiempo	IC95% inferior	IC95% superior	25% fracaso	75% fracaso
0	3	1	4	1,3667	4,2167
1	19,9	5,1333	21,733	7,3333	30
combinado	7,1	3	9,5667	3	19,9

Pruebas entre grupos

Prueba	Chi2	Grados de libertad	De P > Chi ²
Log-Rank	11,4098	1	0,0007*
Wilcoxon	11,3052	1	0,0008*

Tabla 1. Anticuerpos biespecíficos recombinantes desarrollados para terapia contra cáncer celular

Molécula desencadenante	Molécula diana	Formato anticuerpo	de Demostración de eficacia	de Posible indicación
CD3	CD19	taFv (BiTE)	<i>In vitro/in vivo</i>	Tumores de células B
	CD19	Db, scDb, TandAb	<i>In vitro/in vivo</i>	Tumores de células B
	CD20	Db	<i>In vitro/in vivo</i>	Tumores de células B
	EpCAM	taFv (BiTE)	<i>In vitro/in vivo</i>	Varios carcinomas
	EpCAM	taFv	<i>In vitro/in vivo</i>	Varios carcinomas
	EpCAM	Db	<i>In vitro</i>	Varios carcinomas
	HER2/neu	taFv	<i>In vitro</i>	Cáncer de ovario y mama
	HER2/neu	Db	<i>In vitro</i>	Cáncer de ovario y mama
	EGFR	Db	<i>In vitro/in vivo</i>	Varios carcinomas
	EphA2	taFv (BiTE)	<i>In vitro/in vivo</i>	Varios carcinomas, melanoma metastásico
	CEA	Db	<i>In vitro/in vivo</i>	Varios carcinomas
	CEA	scDb, scDb-HSA	<i>In vitro</i>	Varios carcinomas
	Antígeno de Wue	taFv (BiTE)	<i>In vitro</i>	Mieloma múltiple
	MUC-1	Db	<i>In vitro/in vivo</i>	Varios carcinomas
	Antígeno de Lewis Y	taFv	<i>In vitro</i>	Varios carcinomas
	Pgp	Db	<i>In vitro/in vivo</i>	Cánceres resistentes a fármacos
	FAP	taFv	<i>In vitro</i>	Varios carcinomas
CD105	scDb	<i>In vitro</i>	Tumores sólidos	

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para predecir un beneficio terapéutico mejorado para un individuo con una carga tumoral antes de iniciar una terapia inmunitaria con un anticuerpo biespecífico trifuncional capaz de unirse a una célula T a través de CD3; unirse a un antígeno diana asociado a un tumor y unirse a través de su porción Fc a células positivas del receptor Fc- γ de tipo I, IIa y/o III y capaz de activar células inmunitarias contra un tumor que contiene dicho antígeno diana asociado a un tumor, comprendiendo dicho procedimiento
- 5 a. determinar el recuento relativo inicial de linfocitos (RLC) en una muestra de sangre proporcionada de dicho individuo antes de iniciar dicha terapia inmunitaria mediante el cálculo del porcentaje de linfocitos en relación con el número absoluto de leucocitos que comprenden neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos;
- 10 b. correlacionar de manera positiva dicho beneficio terapéutico mejorado con valores crecientes de RLC iniciales de más del 11%, en el que dicho antígeno diana asociado a un tumor se selecciona del grupo que consiste en Her2/neu, CD20, EpCAM y GD2.
- 15 2. Procedimiento, según la reivindicación 1, en el que dicho anticuerpo trifuncional es un anticuerpo biespecífico de rata/ratón.
3. Procedimiento, según la reivindicación 1 o 2, en el que dicho anticuerpo trifuncional se selecciona de al menos un miembro del siguiente grupo de combinaciones de isotipos en su región Fc:
- 20 IgG2b de rata/IgG2a de ratón,
IgG2b de rata/IgG2b de ratón,
IgG2b de rata/IgG1 humana,
[VH-CH1, VL-CL] de ratón-IgG1 humana/[VH-CH1, VL-CL] de rata-IgG1 humana-[bisagra]-IgG3*-[CH2-CH3]
25 humana,
en las que * = alotipos caucásicos G3m (b+g) = no unión a la proteína A.
4. Procedimiento, según una o más de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho anticuerpo tiene la combinación de isotipos IgG2b de rata/IgG2a de ratón.
- 30 5. Procedimiento, según una o más de las reivindicaciones anteriores, que comprende además al menos una de las siguientes etapas:
- c. preseleccionar dicho individuo como no adecuado para dicha terapia inmunitaria si dicho valor de RLC inicial es menor que el 11%; y
- 35 d. identificar dicho individuo como adecuado para dicha terapia inmunitaria si dicho valor de RLC inicial es mayor que el 11%,
- e. correlacionar negativamente dicho beneficio terapéutico mejorado con valores crecientes del recuento inicial relativo de granulocitos (RGC) igual o mayores que aproximadamente el 80%, y/o
- f. preseleccionar dicho individuo como no adecuado para dicha terapia inmunitaria si dicho valor de RGC inicial es mayor que aproximadamente el 80%.
- 40 6. Composición farmacéutica que comprende
- una cantidad farmacéuticamente eficaz de un anticuerpo biespecífico trifuncional capaz de unirse a una célula T a través de CD3; unirse a un antígeno diana asociado a un tumor y unirse a través de su porción Fc a células positivas del receptor Fc- γ de tipo I, IIa y/o III y que es capaz de activar células inmunitarias contra un tumor que contiene dicho antígeno diana asociado a un tumor,
- 45 - y portadores y/o excipientes farmacéuticamente aceptables,
para usar en un procedimiento de tratamiento de individuos que sufren de dicho tumor con dicho anticuerpo biespecífico trifuncional, en el que dichos individuos se seleccionan antes de dicho tratamiento mediante el siguiente procedimiento para predecir un beneficio terapéutico mejorado para dicho individuo con dicho tumor, que comprende
- 50 a. proporcionar una muestra de sangre de dicho individuo antes de iniciar dicha terapia inmunitaria;
- b. determinar el recuento relativo inicial de linfocitos (RLC) en dicha muestra de sangre mediante el cálculo del porcentaje de linfocitos en relación con el número absoluto de leucocitos que comprenden neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos;
- 55 c. correlacionar de manera positiva dicho beneficio terapéutico mejorado con valores crecientes de RLC iniciales de más del 11%, en el que dicho antígeno diana asociado a un tumor se selecciona del grupo que consiste en Her2/neu, CD20, EpCAM y GD2
- 60 7. Composición farmacéutica para usar en un procedimiento de tratamiento, según la reivindicación 6, en la que dicho anticuerpo trifuncional es un anticuerpo biespecífico de rata/ratón.
8. Composición farmacéutica para usar en un procedimiento de tratamiento, según la reivindicación 6 o 7, en la que dicho anticuerpo trifuncional se selecciona de al menos un miembro del siguiente grupo de combinaciones de isotipos en su región Fc:
- 65 IgG2b de rata/IgG2a de ratón,

IgG2b de rata/IgG2b de ratón,
IgG2b de rata/IgG1 humana,
[VH-CH1, VL-CL] de ratón-IgG1 humana/[VH-CH1, VL-CL] de rata-IgG1 humana-[bisagra]-IgG3*-[CH2-CH3]
humana,

5 en las que * = alotipos caucásicos G3m (b+g) = no unión a la proteína A.

9. Composición farmacéutica para usar en un procedimiento de tratamiento, según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho anticuerpo tiene la combinación de isotipos IgG2b de rata/IgG2a de ratón.

10

10. Composición farmacéutica para usar en un procedimiento de tratamiento, según una o más de las reivindicaciones anteriores, que comprende además al menos una de las siguientes etapas:

d. preseleccionar dicho individuo como no adecuado para dicha terapia inmunitaria si dicho valor de RLC inicial es menor que el 11%; y

15 e. identificar dicho individuo como adecuado para dicha terapia inmunitaria si dicho valor de RLC inicial es igual o mayor que el 11%,

f. correlacionar negativamente dicho beneficio terapéutico mejorado con valores crecientes del recuento inicial relativo de granulocitos (RGC) igual o mayores que aproximadamente el 80%, y/o

20 g. preseleccionar dicho individuo como no adecuado para dicha terapia inmunitaria si dicho valor de RGC inicial es mayor que aproximadamente el 80%.

11. Composición farmacéutica para usar en un procedimiento de tratamiento, según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que antes de dicho tratamiento con un agente que es capaz de activar las células inmunitarias contra un tumor, dicho individuo es tratado previamente con el fin de elevar el número de linfocitos.

25

12. Composición farmacéutica para usar en un procedimiento de tratamiento, según la reivindicación 11, en la que dicho pretratamiento incluye la administración de linfocitos o la administración de fármacos que aumentan los linfocitos, incluyendo IL-2, timopentina o una combinación de los mismos.

Análisis de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier

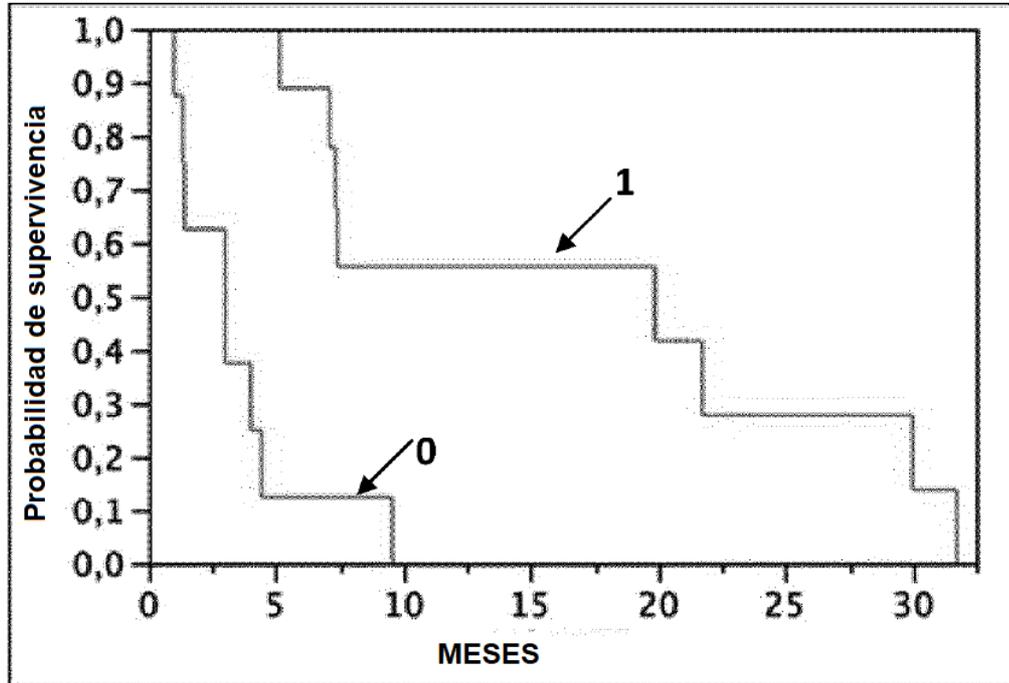


Figura 1

Análisis de supervivencia mediante curvas de Kaplan-Meier

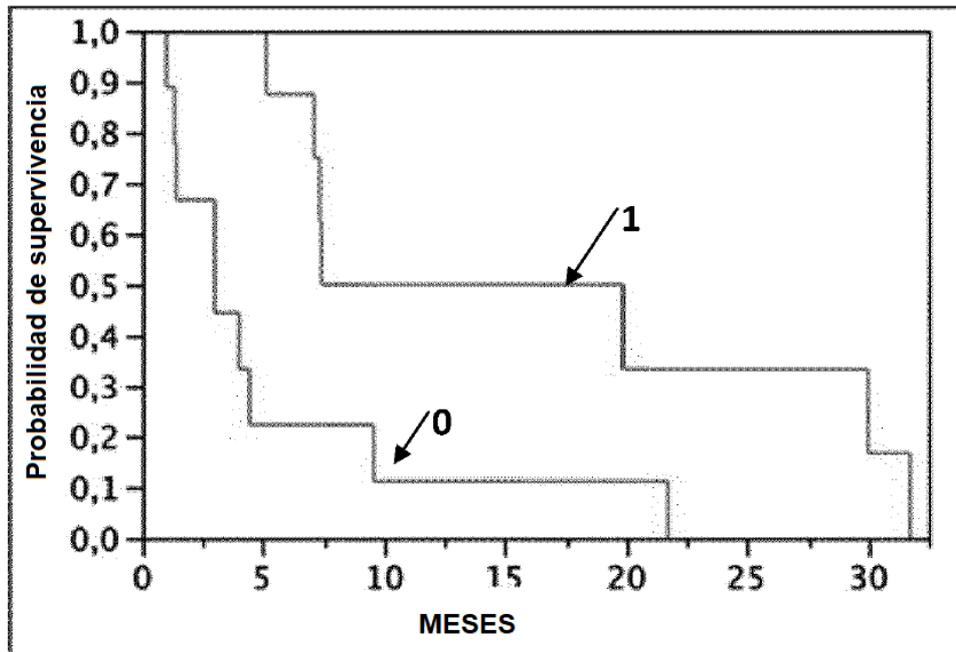
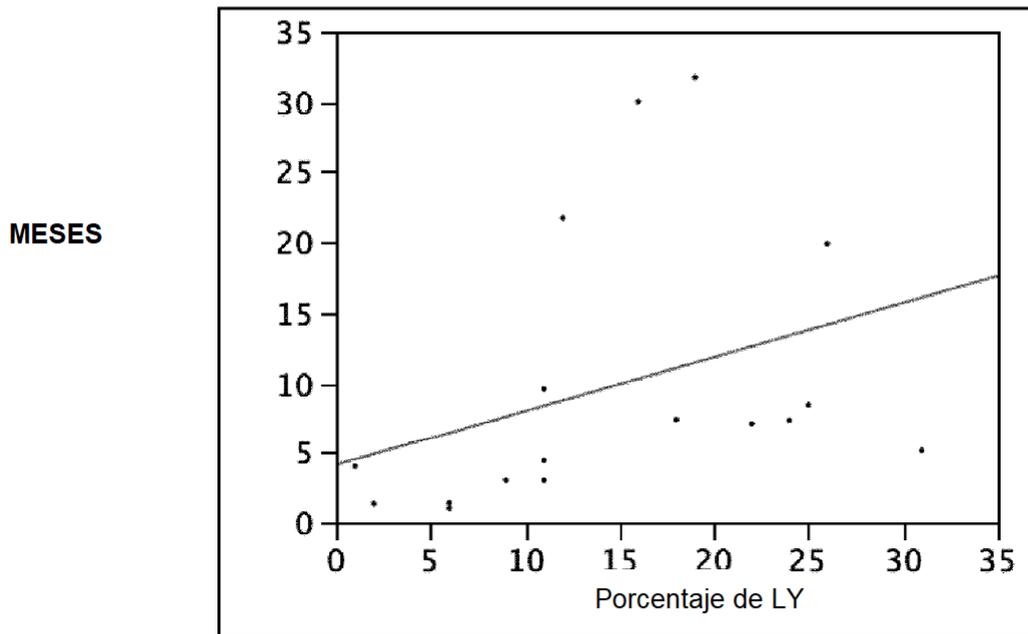


Figura 2

Ajuste bivariante de la supervivencia (en meses) mediante RLC (en porcentaje de LY) después del tratamiento con Catumaxomab



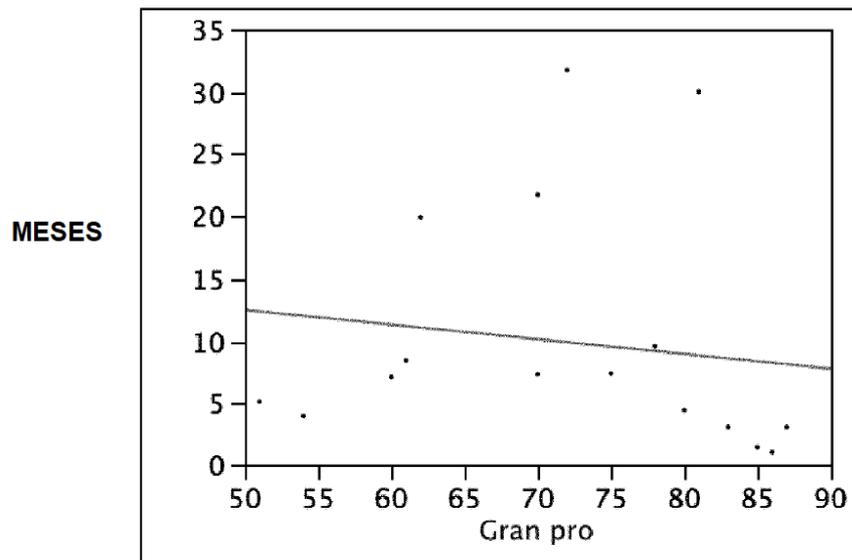
— ajuste lineal

Ajuste lineal: $Meses = 4,118271 + 0,3859576 * \text{porcentaje de LY}$

Figura 3

Correlación bivariante de la supervivencia (en meses) y recuento de granulocitos en porcentaje

Ajuste bivariante de MESES mediante Gran pro



— ajuste lineal

Ajuste lineal

$$\text{MESES} = 18,40912 - 0,1181089 \cdot \text{Gran pro}$$

Figura 4

Regresión logística en % del recuento de linfocitos en las categorías > 11%, > 12% y > 14%

Ajuste logístico de LY > 11 después de MESES

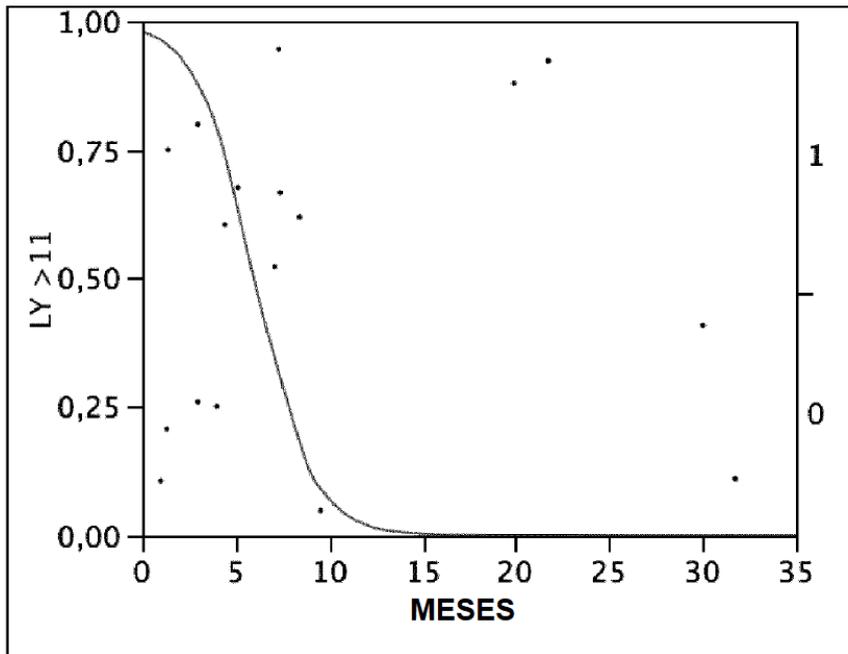


Figura 5

Ajuste logístico de LY > 12 después de MESES

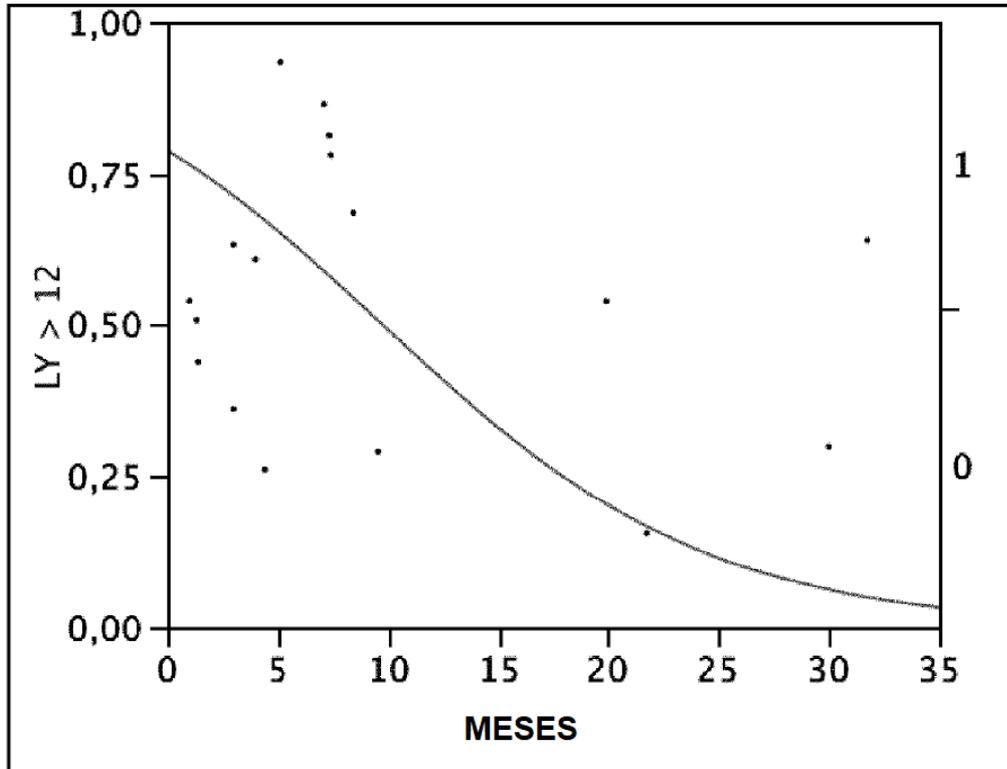


Figura 6

Ajuste logístico de LY > 14 después de MESES

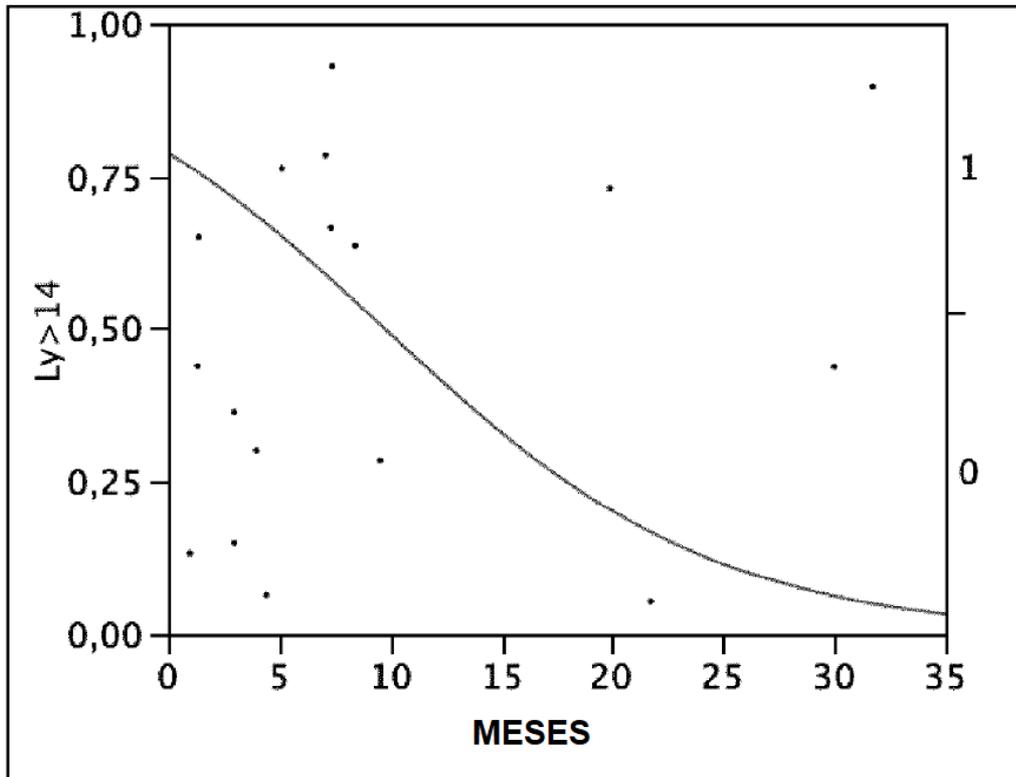


Figura 7