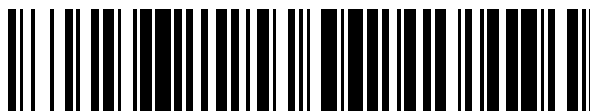


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 933**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/439** (2006.01)  
**A61K 31/566** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**C07K 16/22** (2006.01)  
**A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)  
**A61K 31/436** (2006.01)  
**A61K 31/5685** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.01.2015 PCT/EP2015/051308**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.07.2015 WO15110560**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.01.2015 E 15703743 (3)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.09.2019 EP 3096792**

54 Título: **Tratamiento contra el cáncer usando un antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF) en combinación con exemestano y everolimus**

30 Prioridad:

**24.01.2014 EP 14152416**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.04.2020**

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL  
GMBH (100.0%)  
Binger Strasse 173  
55216 Ingelheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**BOGENRIEDER, THOMAS y  
WEYER-CZERNILOFSKY, ULRIKE**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 755 933 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

Tratamiento contra el cáncer usando un antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF) en combinación con exemestano y everolimus

5 Antecedentes de la invención

10 El cáncer de mama es la neoplasia maligna más habitual en las mujeres de todo el mundo. Se estima que, en 2010, ocurrieron más de 1,6 millones de casos de cáncer de mama nuevos a nivel mundial entre las mujeres (Forouzanfar M., Foreman K., Delossantos A. M., Lozano R., Lopez A. D., Murray C. J. L., *et al.* *Lancet* 378, 1461-1484 (2011)). A pesar de que las tasas de mortalidad han ido decreciendo de manera constante desde 1990, reflejando mejoras en la detección temprana y en el tratamiento, en la actualidad, el cáncer de mama es la segunda causa principal de muerte por cáncer en las mujeres. Esta alta tasa de mortalidad refleja la eficacia limitada de las actuales opciones terapéuticas, particularmente, en pacientes con enfermedad avanzada.

15 Aproximadamente el 75 % de los cánceres de mama primarios son positivos en el receptor hormonal (HR+). Estos cánceres expresan el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR). Las terapias dirigidas a los receptores endocrinos son una opción de tratamiento importante. Para el cáncer de mama HR+ posmenopáusico, un inhibidor de la aromataasa (AI), tal como letrozol y anastrozol, es la terapia de primera línea recomendada para su tratamiento. Desafortunadamente, no todas las pacientes tienen una respuesta a la terapia endocrina de primera línea (resistencia primaria o de novo), e incluso las pacientes que tienen una respuesta acaban cayendo (resistencia adquirida). Sobre la progresión de la enfermedad, las opciones de tratamiento de segunda línea incluyen otras clases de inhibidores de la aromataasa (esteroideos o no esteroideos) y los antagonistas del receptor de estrógeno (ER) fulvestrant y tamoxifeno (Villarreal-Garza C., Cortes J., Andre F., Verma S. *Ann Oncol* 23 (10), 2526 - 2535 (2012).

20 La resistencia adquirida y de novo a la terapia endocrina presenta un importante desafío en el tratamiento del cáncer de mama HR+. Se ha demostrado que la diana de la vía de la rapamicina en los mamíferos (mTOR) desempeña un papel importante en la resistencia a la terapia endocrina. Dos informes publicados recientemente han demostrado el beneficio de un nuevo inhibidor de mTOR, el Everolimus, combinado con las terapias endocrinas. En las pacientes con cáncer de mama metastásico negativo en HER2 y positivo en el receptor hormonal, refractario a las hormonas, el tamoxifeno más el everolimus produjo un mayor beneficio clínico en comparación con el tamoxifeno solo, con un mejor tiempo de progresión (SLP de 8,6 frente a 4,5 meses) y una supervivencia general (reducción del 55 % del riesgo de muerte asociado con la terapia combinada, HR, 0,45; IC del 95 %, de 0,24 a 0,81; *p* exploratorio = 007) (Bachelot T., Bourcier C., Cropet C., Ray-Coquard I., Ferrero J. M., Freyer G., *et al.* *J Clin Oncol* 30 (22), 2718 - 2724 (2012)). En una población de pacientes similar, el ensayo del cáncer de mama en fase III con Everolimus oral 2 (BOLERO-2) (Baselga J., Campone M., Piccart M., Burris H. A., Rugo H. S., Sahmoud T. *et al.* *N Engl J Med* 2012; 366(6): 520-529) demostró que el tratamiento con everolimus más exemestano aumentó más del doble la supervivencia libre de progresión hasta los 7,8 meses en comparación con los 3,2 meses para aquellas pacientes tratadas solo con exemestano (razón de riesgo, 0,45; Intervalo de confianza del 95 %, 0,38-0,54; *p* de rango logarítmico unilateral <.0001) según la evaluación del investigador local. La tasa de respuesta general también mejoró en comparación con el exemestano solo (12,6 % frente al 1,7 %). Basándose en el resultado de este ensayo, el everolimus, como primer fármaco de la clase mTOR, fue aprobado por la agencia reguladora para el tratamiento de mujeres posmenopáusicas con cáncer de mama avanzado negativo en HER2 y positivo en el receptor hormonal (CM HR+ avanzado) en combinación con el exemestano, después del fracaso del tratamiento con letrozol o anastrozol.

45 El factor de crecimiento insulínico de tipo 1 (IGF-1; un polipéptido de 70 aminoácidos) y el factor de crecimiento insulínico de tipo 2 (IGF-2; un polipéptido de 67 aminoácidos) son factores solubles de 7,5 kD que están presentes en el suero que pueden estimular de manera potente el crecimiento de muchas células de los mamíferos (revisado por Pollack *et al.*, *Nature Rev. Can.* 4: 505-518, 2004). Al secretarse en el torrente sanguíneo, los IGF forman complejos con los IGFBP, lo que les protege de la degradación proteolítica en el suero en el recorrido hacia sus tejidos diana y evita su asociación con los receptores de IGF. También se sabe que los IGF se secretan de manera autocrina o paracrina en lo propios tejidos diana. Se sabe que esto ocurre durante el desarrollo fetal normal, en el que los IGF desempeñan un papel clave en el crecimiento de los tejidos, los huesos y los órganos. También se observa en muchos tejidos cancerosos, en los que se cree que hay señalización paracrina entre las células tumorales y las células del estroma o la producción de IGF autocrino por las propias células tumorales (revisado por LeRoith D., *Experimental Diab. Res.* 4: 205-212, 2003).

50 IGF-1 e IGF-2 pueden unirse al receptor de IGF-1 (IGF-1R) expresado en muchos tejidos normales, que funcionalmente es un heterotetrámero de 460 kD que consiste en una subunidad alfa y beta dimerizada, con afinidades similares (Rubin *et al.*, *Lab. Invest.* 73: 311-31, 1995). IGF-2 también puede unirse al receptor de IGF-2, lo que se cree que evita que IGF-2 se una y señalice a través del IGF-1R. En este sentido, se ha demostrado que el IGF-2R es una proteína de supresión tumoral. El IGF-1R es estructuralmente similar al receptor de insulina, que existe de dos formas, IR-A e IR-B, que difieren en una eliminación del exón de 12 aminoácidos cortado y empalmado alternativamente en el dominio extracelular de IR-A. IR-B es la isoforma predominante del IR, expresada en la mayoría de los tejidos adultos normales, en los que actúa para mediar los efectos de la insulina en el metabolismo. Por otro lado, se sabe que IR-A se expresa a un alto nivel en los tejidos fetales en desarrollo, pero no en los tejidos normales de los adultos. Estudios

recientes también han demostrado que IR-A, pero no IR-B, se expresa a un alto nivel en algunos tipos de cáncer. La eliminación del exón en IR-A no tiene impacto en la unión a la insulina, pero produce un pequeño cambio de configuración que permite que IGF-2 se una con una afinidad mucho mayor de la que se une a IR-B (Frasca *et al.*, *Mol. Cell. Biol.* 19: 3278-88, 1999; Pandini *et al.*, *J. Biol. Chem.* 277: 39684-95, 2002). Por lo tanto, debido a su expresión en los tejidos cancerosos y a la mayor propensión a unirse a IGF-2, el IR-A puede ser tan importante como el IGF1-R en la mediación de los efectos mitogénicos de IGF-2 en el cáncer.

La unión de los IGF al IGF-1R desencadena una compleja cascada de señalización intracelular que produce la activación de proteínas que estimulan la proliferación y la supervivencia (revisado por Pollack *et al.*, *Nature Rev. Can.* 4: 505-518, 2004).

Existe un gran conjunto de publicaciones científicas, epidemiológicas y clínicas que implica un papel para los IGF en el desarrollo, la progresión y la metástasis de muchos tipos diferentes de cáncer (revisado por Jerome *et al.*, *End. Rel. Cancer* 10: 561-578, 2003; y Pollack *et al.*, *Nature Rev. Can.* 4: 505-518, 2004).

Los datos preclínicos y clínicos indicaron que la regulación aberrante del sistema de IGF se atribuye a la patogénesis del cáncer de mama y también contribuye a las diferentes etapas de la carcinogénesis de mama. La sobreexpresión de IGF-1R es común en las estirpes celulares de cáncer de mama y en las biopsias tumorales recién extraídas (Cullen, K. J., Yee D., Sly W. S., Perdue J., Hampton B., Lippman M. E., Rosen N., *Cancer Res* 50 (1), 48-53 (1990), Yang Y., Yee D. J., *Mammary Gland Biol Neoplasia* 17 (3/4), 251-261 (2012), Peyrat J. P., Bonnetterre J., Beuscart R., Dijane J., Demaille A., *Cancer Res* 48 (22), 6429-6433 (1988), y la actividad de IGF capturada en un distintivo micromatrical se ha asociado con un mal resultado clínico (Zardavas, D., Basalga J. y Piccart M. *Nat Rev Clin Oncol.* abril de 2013;10(4):191-210). La interacción bidireccional entre el estrógeno y las vías de señalización de IGF está bien documentada (Clarke R. B., Howell A., Anderson E. *Br J Cancer* 75 (2), 251-257 (1997), Hamelers I. H. L., Schaik RFMA van, Teeffelen HAAM van, Sussenbach J. S., Steenbergh P. H. *Exp Cell Res* 273, 107 -117), mediando la activación de este último la resistencia endocrina (Wiseman L. R., Johnson M. D., Wakeling A. E., Lykkesfeldt A. E., mayo, FEB, Westley B. R., *Eur J Cancer* (A) 29 (16), 2256 - 2264 (1993). En el cáncer de mama ER+ resistente a la terapia hormonal, la isoforma InsR-A es el receptor de insulina predominante, lo que sugiere un papel importante para la señalización de IGF-2 (Bachelot T., Bourcier C., Cropet C., Ray-Coquard I., Ferrero J. M., Freyer G., *et al. J Clin Oncol* 30 (22), 2718 - 2724 (2012). Por lo tanto, la red de señalización de IGF representa una diana prometedora en el cáncer de mama avanzado.

Actualmente existen tres estrategias diferentes que inhiben las vías de IGF, incluyendo los anticuerpos monoclonales anti-receptor (ganitumab, cixutumumab y dalotuzumab), inhibidores de la tirosina quinasa (TKI, incluyendo los inhibidores duales de IGF-1R e InsR de tirosina quinasa BMS-754807, KW2450 y linsitinib), y los anticuerpos anti-ligando de IGF (dusigitumab (MEDI-573, Astra Zeneca/MedImmune). Estos agentes se están probando actualmente en el campo clínico, bien como monoterapia o en combinación con agentes citotóxicos y/u otros agentes dirigidos molecularmente.

La principal ventaja de los anticuerpos neutralizantes tanto para IGF-1 como para IGF-2 es que el secuestro de los ligandos garantiza que no se produzca la activación del receptor por parte de IGF-1 o IGF-2, y elimina la posibilidad de que IGF-2 produzca la activación de InsR-A. Por lo tanto, ofrece un enfoque equilibrado con potencial terapéutico en una variedad de cánceres, con algunas de las dificultades de dirigir el IGF-1R con anticuerpos monoclonales (Acm).

Un posible mecanismo de resistencia a la terapia con inhibidores de mTOR es la inducción de la fosforilación de AKT, que se observa con frecuencia en estudios preclínicos y clínicos (Sun S. Y., Rosenberg L. M., Wang X., Zhou Z., Yue P., Fu H., *et al. Cancer Res.* 15 de agosto de 2005;65(16):7052-8; Tabernero J., Rojo F., Calvo E., Burris H., Judson I., Hazell K., *et al. J Clin Oncol* 2008; 26(10):1603-1610; Wan X., Harkavy B., Shen N., Grohar P., Helman L. J., Oncogene 26, 1932-1940 (2007); O'Reilly K. E., Rojo F., She Q. B., Solit D., Mills G. B., Smith D., *et al. Cancer Res* 66 (3), 1500-1508 (2006)). Asimismo, la regulación positiva de la actividad de AKT depende de la señalización del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF)/factor de crecimiento insulínico de tipo 1 (IGF-1R). Se ha observado en los tumores que la inhibición de mTOR con los análogos de rapamicina libera un ciclo de realimentación negativa sobre los receptores de factores de crecimiento, incluyendo el complejo del sustrato del receptor del factor de crecimiento insulínico de tipo 1/receptor de insulina (IRS)-1, que produce la activación de la señalización de IGF-1R y, en última instancia, la fosforilación de AKT, que, a su vez, podría contrarrestar los efectos antitumorales de los inhibidores de mTOR. La activación puede evitarse si se bloquea simultáneamente la señalización de IGF (Higgins M. J., Baselga J. *J Clin Invest* 121 (10), 3797 - 3803 (2011).

La combinación de un anticuerpo anti-IGF-IR tal como el dalotuzumab, robatumumab, figitumumab, cixutumumab, ganitumab, Roche RI507 y EM164 con un inhibidor de mTor, por ejemplo, everolimus y un inhibidor de la aromatasa, por ejemplo, el exemestano para el tratamiento del cáncer de mama se desvela en el documento WO2013/169611. Por lo tanto, este tratamiento combinado aplica un anticuerpo al receptor de IGF y solo presenta datos sobre una combinación de ridaforolimus (MK-8669), dalotuzumab (MK-0646) y letrozol en un modelo de cáncer de mama ER+, con sensibilidad endocrina.

Sobre este trasfondo, los presentes inventores decidieron combinar un anticuerpo anti-IGF humano con exemestano

y everolimus. Sorprendentemente, han descubierto que una combinación triple del anticuerpo anti-IGF humano con exemestano y everolimus es claramente ventajosa contra el crecimiento de una estirpe celular de cáncer de mama en comparación con la combinación doble de exemestano y everolimus. Hasta la presente invención, no se había desvelado ni contemplado la combinación del anticuerpo anti-IGF humano con exemestano y everolimus para tratar pacientes con cáncer de mama.

La presente solicitud se refiere a una combinación ventajosa de un anticuerpo anti-IGF humano con exemestano y everolimus en pacientes con cáncer de mama.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Efecto de una combinación triple de Ac contra IGF 60833, everolimus y exemestano, frente a una combinación doble de everolimus y exemestano. La figura muestra una comparación de la combinación doble de everolimus y exemestano (panel superior) frente a la combinación triple del Ac contra IGF 60833, everolimus y exemestano (panel inferior). Fig. 1 A: Combinación doble: Everolimus + Exemestano "Campaña" combinada x3 separada por la concentración de Ac<sup>m</sup>, N = 3 (IC<sub>50</sub> de Bliss) media de estirpe celular AlamarBlue (144 h, célula{29164/5000/}) Fig. 1 B: Combinación triple: Everolimus + Exemestano, + 60833 (10 nM) "Campaña" combinada x3 separada por la concentración de Ac<sup>m</sup>, N = 3 (IC<sub>50</sub> de Bliss) media de estirpe celular AlamarBlue (144 h, célula{29164/5000/})

Figura 2. Efecto de everolimus y exemestano, solos o en combinación, sobre el crecimiento *in vitro* de células MCF7aro. En tres experimentos independientes (A, B, C). Se trataron células MCF7aro con diferentes concentraciones de everolimus y exemestano, como agentes individuales y en combinación. Tras la incubación durante 6 días, se cuantificó el efecto inhibitor del crecimiento de las células MCF7aro usando el ensayo de viabilidad celular AlamarBlue®. Los datos que se muestran en (D) representan los valores medios de los tres experimentos independientes.

Figura 3. Efecto de everolimus y exemestano, solos o en combinación, combinados con Ac contra IGF 60833 10 nM, sobre el crecimiento *in vitro* de células MCF7aro. En tres experimentos independientes (A, B, C). Se trataron células MCF7aro con diferentes concentraciones de everolimus y exemestano, como agentes individuales y en combinación, combinados con Ac contra IGF 60833 10 nM. Tras la incubación durante 6 días, se cuantificó el efecto inhibitor del crecimiento de las células MCF7aro usando el ensayo de viabilidad celular AlamarBlue®. Los datos que se muestran en (D) representan los valores medios de los tres experimentos independientes.

Figura 4. Efecto de Ac contra IGF 60833 y everolimus, solos o en combinación, sobre el estado de fosforilación de AKT y S6 en células MCF7aro *in vitro*. Se trataron células MCF7aro con Ac contra IGF 60833 100 nM y everolimus 0,32 nM como agentes únicos o en combinación durante 24 horas. Se analizaron mediante transferencia Western lisados celulares preparados a partir de células tratadas con vehículo (DMSO) y tratadas con inhibidor.

Figura 5. Efecto del Ac contra IGF 60833, exemestano y everolimus, solos o en combinación, sobre la inducción de la apoptosis en células MCF7aro *in vitro*. Se trataron células MCF7aro con Ac contra IGF 60833 1 µM, exemestano 1 µM y everolimus 1 µM como agentes únicos o en combinación durante 72 horas. Se analizaron lisados celulares preparados a partir de células tratadas con vehículo (DMSO) y tratadas con inhibidor mediante transferencia Western y el panel de la apoptosis MSD para la inducción de la escisión de PARP.

Breve descripción de la invención

En un aspecto, la presente invención se refiere a un antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF) para su uso en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama en combinación con exemestano y everolimus, cuyo antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 11 (HCDR1), SEQ ID NO: 12 (HCDR2) y SEQ ID NO: 13 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 14 (LCDR1), SEQ ID NO: 15 (LCDR2) y SEQ ID NO: 16 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 21 (HCDR1), SEQ ID NO: 22 (HCDR2) y SEQ ID NO: 23 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 24 (LCDR1), SEQ ID NO: 25 (LCDR2) y SEQ ID NO: 26 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 (HCDR1), SEQ ID NO: 32 (HCDR2) y SEQ ID NO: 33 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 34 (LCDR1), SEQ ID NO: 35 (LCDR2) y SEQ ID NO: 36 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 18, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 27 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 38, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 42, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 43 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 20, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 30, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID

NO: 40.

En otro aspecto, en el presente documento, se describe un método de tratamiento del cáncer de mama que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista del receptor de IGF a un paciente que lo necesita, y además, administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de exemestano y everolimus al mismo paciente.

Preferentemente, el cáncer de mama es cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a la combinación de un antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF) con exemestano (Aromasin®) y el análogo de rapamicina (inhibidor de mTOR de primera generación) everolimus (Afinitor®) en el cáncer de mama, en concreto, en el cáncer de mama avanzado positivo en receptor de estrógeno. Los inhibidores de la rapamicina (mTOR) en los mamíferos median la activación de AKT a través de un mecanismo dependiente del receptor del factor de crecimiento insulínico de tipo 1 (IGF-1R). Se cree que la combinación con el antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF) potencia la actividad anticancerígena dirigida a mTOR mediante la modulación de la resistencia a la inhibición de mTOR dirigiéndose a los bucles de realimentación.

En un aspecto, en el presente documento, se describe un antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF) para su uso en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama en combinación con exemestano y everolimus.

Preferentemente, el cáncer de mama está localmente avanzado.

Preferentemente, el cáncer de mama es un cáncer de mama metastásico.

Los métodos de identificación de si una paciente tiene un cáncer de mama localmente avanzado o metastásico son bien conocidos en la técnica, y el experto en la materia los puede usar fácilmente. En otra realización, el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico sobreexpresa los receptores hormonales, tales como los receptores de estrógeno.

En otra realización, el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es positivo en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR). Preferentemente, el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico también es negativo en HER2. También, preferentemente, el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico también es refractario al inhibidor de la aromatasas no esteroideo (por ejemplo, letrozol y/o anastrozol).

Los métodos de identificación de si una paciente tiene un cáncer de mama que es positivo en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR), y si sobreexpresa los receptores hormonales, tales como un receptor de estrógeno, son bien conocidos en la técnica.

En otra realización, la paciente que se va a tratar tiene cáncer de mama localmente avanzado o metastásico que no se considera susceptible de cirugía curativa ni radioterapia curativa.

En otra realización, la paciente que se va a tratar es una mujer posmenopáusica.

En otra realización, la paciente que se va a tratar muestra evidencia objetiva de recurrencia o de enfermedad progresiva en o después de la última línea de terapia sistémica para el cáncer de mama antes de entrar en el estudio.

En otra realización, la paciente que se va a tratar tiene una lesión medible de acuerdo con RECIST versión 1.1 o solo lesiones óseas: lítica o mixta (lítica + esclerótica) en ausencia de lesión medible como se ha definido anteriormente.

En otra realización, la paciente que se va a tratar tiene una puntuación de rendimiento del Grupo de Oncología Cooperativo Oriental  $\leq 2$ .

En otra realización, la paciente que se va a tratar tiene una esperanza de vida de  $\geq 6$  meses en opinión del investigador.

En otra realización, la paciente que se va a tratar tiene glucosa en plasma en ayunas  $< 8,9$  mmol/l ( $< 160$  mg/dl) y HbA1c  $< 8,0$  %.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no se ha tratado con agentes dirigidos a la vía de IGF, la vía de señalización de fosfoinositida 3-quinasa (PI3K), la vía de la proteína quinasa B (AKT) o la vía de la diana en mamíferos de la rapamicina (mTOR).

En otra realización, la paciente que se va a tratar no se ha tratado con exemestano.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene hipersensibilidad conocida hacia el anticuerpo monoclonal,

hacia los inhibidores de mTOR (por ejemplo, sirolimus) o hacia los excipientes de cualquier fármaco del estudio.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene supresión ovárica por radiación ovárica o tratamiento con un agonista de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-HR).

5 En otra realización, no hace menos de una semana que la paciente que se va a tratar ha recibido la inmunización con vacunas vivas atenuadas antes del tratamiento.

10 En otra realización, la paciente que se va a tratar no ha recibido radioterapia en el transcurso de las 4 semanas previas al tratamiento inicial, excepto en el caso de la radioterapia localizada con fines analgésicos o para lesiones líticas con riesgo de fractura que luego puede completarse en el transcurso de las dos semanas previas al tratamiento del estudio.

15 En otra realización, la paciente que se va a tratar no ha recibido quimioterapia, terapia biológica (distinta de bevacizumab), inmunoterapia o agentes de investigación durante la semivida de 5 del fármaco o en el transcurso de las dos semanas previas al inicio del tratamiento, lo que sea más largo; tratamiento con bevacizumab en el transcurso de las 4 semanas previas al inicio del tratamiento del estudio.

20 En otra realización, la paciente que se va a tratar no ha recibido tratamiento hormonal para el cáncer de mama en el transcurso de las 2 semanas previas al inicio del tratamiento.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no ha recibido cirugía mayor en el transcurso de las 4 semanas previas al comienzo del tratamiento ni tiene programada una cirugía en el transcurso previsto del tratamiento.

25 En otra realización, la paciente que se va a tratar no está recibiendo agentes inmunosupresores concomitantes ni el uso de corticosteroides crónicos, excepto aplicaciones tópicas, aerosoles inhalados, gotas oculares o inyecciones locales o dosis bajas estables de corticosteroides durante al menos dos semanas antes del tratamiento del estudio.

30 En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene infección crónica por hepatitis B, infección crónica por hepatitis C ni/o es un portador del VIH conocido.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no muestra una prolongación de QTcF > 470 ms ni una prolongación de QT considerada clínicamente relevante.

35 En otra realización, la paciente que se va a tratar no muestra una enfermedad que progrese rápidamente o que sea potencialmente mortal, tal como una enfermedad visceral sintomática extensa que incluya afectación hepática y diseminación linfangítica pulmonar del tumor.

40 En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene antecedentes de metástasis cerebral u otras metástasis del SNC.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene carcinomatosis linfangítica difusa bilateral.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene hipocalemia de Grado > 1.

45 En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene antecedentes de otra neoplasia maligna primaria en el transcurso de 5 años, a excepción de un carcinoma *in situ* de cuello uterino tratado adecuadamente, carcinoma basocelular o de células escamosas o de útero, o cáncer de piel no melanomatoso.

En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene antecedentes familiares de síndrome de QT largo.

50 En otra realización, la paciente que se va a tratar no tiene ninguna enfermedad grave concomitante ni disfunción del sistema orgánico que pueda comprometer la seguridad de la paciente o interferir en la seguridad y la actividad antitumoral de los medicamentos.

55 En otra realización, la paciente que se va a tratar no se está tratando con fármacos reconocidos como inhibidores potentes o moderados de CYP3A4 y/o PgP y/o inductores potentes de CYP3A4 en el transcurso de las 2 semanas previas al tratamiento.

60 En otra realización, la paciente que se va a tratar no ha recibido más de dos líneas de quimioterapia para el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.

65 Un antagonista del receptor de IGF, en el contexto de la invención, es un compuesto que interfiere con, ya sea directa o indirectamente, y que reduce o bloquea la señalización del receptor de IGF. Preferentemente, un antagonista del receptor de IGF es un compuesto que reduce o bloquea la unión del ligando de IGF a su receptor, o inhibe la actividad de la tirosina quinasa del receptor de IGF.

5 En una realización adicional, el antagonista del receptor de IGF descrito en el presente documento es un anticuerpo que se une al ligando de IGF y, por lo tanto, reduce o evita la unión del ligando al receptor. En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo que se une al receptor de IGF-1 y, por lo tanto, reduce o evita la unión del ligando al receptor. Mediante el bloque de la unión receptor-ligando, se reduce o se evita la señalización del receptor inducida por el ligando a través de la actividad tirosina quinasa del receptor. Dichos anticuerpos se denominan, en general, anticuerpos neutralizantes. En otro aspecto, el antagonista del receptor de IGF descrito en el presente documento neutraliza las propiedades potenciadoras del crecimiento de los factores de crecimiento insulínico, IGF-1 e IGF-2.

10 El término "anticuerpo" engloba anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, moléculas y conjugados de tipo anticuerpo con cualquiera de los anteriores. Los anticuerpos incluyen, pero sin limitación, anticuerpos policlonales o monoclonales, quiméricos, humanizados, de ser humano, monoespecíficos, biespecíficos o multiespecíficos. El término "anticuerpo" englobará inmunoglobulinas completas, ya que son producidas por los linfocitos y, por ejemplo, están presentes en el suero sanguíneo, anticuerpos monoclonales secretados por estirpes celulares de hibridoma, polipéptidos producidos mediante la expresión recombinante en células hospedadoras, que tienen la especificidad de unión de las inmunoglobulinas o los anticuerpos monoclonales, y moléculas que se han derivado de dichas inmunoglobulinas, anticuerpos monoclonales o polipéptidos mediante procesamiento adicional mientras conservan su especificidad de unión. En particular, el término "anticuerpo" incluye inmunoglobulinas completas que comprenden dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. En otra realización, el término engloba un fragmento de una inmunoglobulina, fragmentos de tipo Fab. En otra realización, el término "anticuerpo" engloba un polipéptido que tiene uno o más dominios variables derivados de una inmunoglobulina, anticuerpos monocatenarios (scFv), anticuerpos de un solo dominio y similares.

25 En una realización adicional, el antagonista del receptor de IGF descrito en el presente documento es un anticuerpo contra IGF-1, un anticuerpo contra IGF-2, un anticuerpo que se une tanto a IGF-1 como a IGF-2, un anticuerpo contra el receptor de IGF-1 (IGF-1R) o un inhibidor de la actividad tirosina quinasa del IGF-1R.

30 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 1 (HCDR1), SEQ ID NO: 2 (HCDR2) y SEQ ID NO: 3 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 4 (LCDR1), SEQ ID NO: 5 (LCDR2) y SEQ ID NO: 6 (LCDR3).

35 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 11 (HCDR1), SEQ ID NO: 12 (HCDR2) y SEQ ID NO: 13 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 14 (LCDR1), SEQ ID NO: 15 (LCDR2) y SEQ ID NO: 16 (LCDR3).

40 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 21 (HCDR1), SEQ ID NO: 22 (HCDR2) y SEQ ID NO: 23 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 24 (LCDR1), SEQ ID NO: 25 (LCDR2) y SEQ ID NO: 26 (LCDR3).

45 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 (HCDR1), SEQ ID NO: 32 (HCDR2) y SEQ ID NO: 33 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 34 (LCDR1), SEQ ID NO: 35 (LCDR2) y SEQ ID NO: 36 (LCDR3).

50 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 7 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 8.

En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 18.

55 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 27 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28.

En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 38.

60 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 42.

En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 43 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44.

65 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una cadena

pesada de SEQ ID NO: 9 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 10.

En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 20.

5 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 30.

10 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40.

En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo del receptor de IGF que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 45 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 46.

15 Preferentemente, el antagonista del receptor de IGF es 60833, un anticuerpo contra el ligando de IGF que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40. Su fabricación se ha desvelado en el documento WO 2010/066868.

20 En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es dusigitumab, figitumumab, dalotuzumab, cixutumumab, robatumumab o ganitumab.

En otra realización, el antagonista del receptor de IGF es linsitinib.

25 La fabricación y el uso terapéutico de los anticuerpos mencionados anteriormente se desvelan en la técnica y son bien conocidos por el experto, y las divulgaciones específicas se pueden identificar en los documentos WO2002/53596, WO2007/070432, WO2008/152422, WO2008/155387 y WO2010/066868.

30 En una realización, el anticuerpo se produce mediante la expresión recombinante en una célula hospedadora de mamífero, purificada mediante una serie de etapas cromatográficas y no cromatográficas, y formulada en una composición de tampón acuoso para infusión o inyección parenteral (intravenosa) a una concentración de anticuerpo de 10 mg/ml, comprendiendo dicho tampón, por ejemplo, citrato de Na 25 mM pH 6, NaCl 115 mM y polisorbato 20 al 0,02 %. Para la infusión intravenosa, la composición farmacéutica puede diluirse con una solución fisiológica, por ejemplo, con solución de cloruro de sodio al 0,9 % o de G5.

35 El anticuerpo puede administrarse a la paciente a una dosis de entre 1 mg/kg y 20 mg/kg, mediante una o más administraciones separadas o mediante infusión continua, por ejemplo, mediante infusión durante 1 hora. Un programa de tratamiento típico, en general, implica la administración del anticuerpo una vez a la semana o una vez cada tres semanas. Por ejemplo, una dosis semanal puede ser de 5, 10 o 15 mg/kg.

40 El anticuerpo también se puede administrar a la paciente a una dosis de entre 500 y 1000 mg a la semana, opcionalmente, 750 o 1.000 mg a la semana.

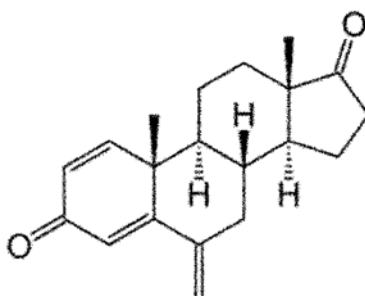
45 El antagonista del receptor de IGF se administra a la paciente en combinación con la administración de exemestano y everolimus. "En combinación" significa que los fármacos se administran a la misma paciente en el transcurso de un cierto período de tiempo para lograr un efecto terapéutico causado por los efectos combinados de los modos de acción. En un aspecto, se administran exemestano y everolimus el mismo día que el antagonista del receptor de IGF. En otro aspecto, se administran exemestano y everolimus uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete días antes o después de la administración del antagonista del receptor de IGF.

50 En otra realización, los tres compuestos activos están presentes dentro de la misma composición farmacéutica. Por lo tanto, en otra realización, en el presente documento, se describe una composición farmacéutica, que comprende un antagonista del receptor de IGF, y exemestano y everolimus, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

55 El exemestano es un miembro de la clase de fármacos conocidos como inhibidores de la aromatasa. Algunos cánceres de mama requieren estrógeno para crecer. Esos cánceres tienen receptores de estrógeno (ER) y se denominan ER positivos. También se pueden denominar sensibles a estrógenos, sensibles a hormonas o positivos en receptores hormonales. La aromatasa es una enzima que sintetiza estrógeno. Los inhibidores de la aromatasa bloquean la síntesis de estrógeno. Esto reduce el nivel de estrógeno y ralentiza el crecimiento de los cánceres.

60 A continuación, se proporciona la estructura del exemestano



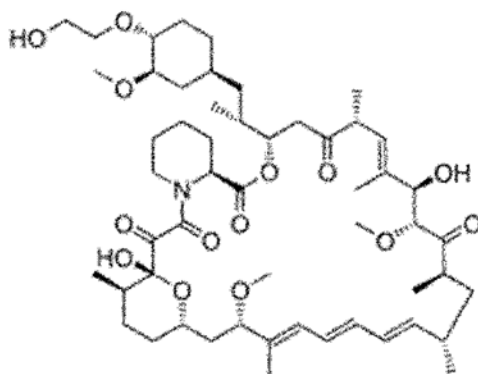


El nombre sistemático es 6-metilidenandrosta-1,4-dieno-3,17-diona

5 El exemestano se puede obtener en el mercado con el nombre comercial Aromasin. La fabricación, la formulación y el uso del exemestano se pueden encontrar en el estado de la técnica.

Preferentemente, el exemestano se suministrará a las pacientes por vía oral a una dosis de 25 mg al día; El everolimus es un inhibidor de la diana en mamíferos de la rapamicina (mTOR).

10 A continuación, se proporciona la estructura del everolimus



15 El nombre sistemático es dihidroxi-12-[(2R)-1-[(1S,3R,4R)-4-(2-hidroxietoxi)-3-metoxiciclohexil]propan-2-il]-19,30-dimetoxi-15,17,21,23,29,35-hexametil-11,36-dioxa-4-azatriciclo[30.3.1.0-hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-2,3,10,14,20-pentona.

El everolimus se puede obtener en el mercado con el nombre comercial Afinitor. La fabricación, la formulación y el uso del exemestano se pueden encontrar en el estado de la técnica.

20 Preferentemente, el everolimus se suministrará a las pacientes por vía oral a una dosis de entre 5 mg y 10 mg al día; opcionalmente, de 7,5 mg al día;

25 En otra realización, en el presente documento, se describe un método de tratamiento del cáncer de mama que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista del receptor de IGF a un paciente que lo necesita, y además, administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de exemestano y everolimus al mismo paciente.

Preferentemente, el cáncer de mama es cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.

30 Una "cantidad terapéuticamente eficaz" del antagonista del receptor de IGF o exemestano y everolimus que se va a administrar es la cantidad mínima necesaria para prevenir, mejorar o tratar un cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.

Ejemplo 1: Estudio del Ac contra el IGF 60833 en combinación con Exemestano y Everolimus frente a Exemestano y Everolimus solos en mujeres con cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.

35 *Introducción*

El estudio propuesto en el presente documento investiga el efecto del Ac contra el IGF 60833 en combinación con Exemestano y Everolimus en el cáncer de mama metastásico positivo en el receptor de estrógeno.

40 Con más detalle, la parte de la Fase I determinará la dosis máxima tolerada (DMT) y la dosis recomendada de la fase II (DRF2) del Ac contra el IGF 60833 y la combinación de everolimus con exemestano en mujeres con cáncer de mama avanzado HR+/HER2. La parte de la Fase II evaluará la actividad antitumoral del Ac contra IGF 60833 en combinación con exemestano y everolimus en comparación con exemestano y everolimus solo en mujeres con cáncer de mama

avanzado HR+/HER2.

#### *Antecedentes*

5 El Ac contra IGF 60833 es un anticuerpo monoclonal completamente humano (Ac hum) del isotipo IgG1. El Ac se une con alta afinidad a IGF-1 e IGF-2, y neutraliza de manera potente la señalización celular proliferativa y de supervivencia desencadenada por ambas proteínas.

10 El Everolimus es un inhibidor selectivo de mTOR (diana de la rapamicina en mamíferos).

15 El Exemestano es un inhibidor de la aromatasas esteroideo oral que se usa en el cáncer de mama ER positivo además de la cirugía y/o radiación en mujeres posmenopáusicas.

#### *Administración*

20 Se administrará Ac contra IGF 60833 a los sitios de estudio en forma de un concentrado para solución inyectable/perfusión. Se suministrará un total de 1.000 mg a las pacientes por vía intravenosa. El paciente tendrá un tratamiento continuo hasta la progresión de la enfermedad, EA intolerables, retiro del consentimiento o incumplimiento del estudio.

25 El Everolimus se suministrará a las pacientes por vía oral a una dosis de 10 mg al día. El paciente tendrá un tratamiento continuo hasta la progresión de la enfermedad, EA intolerables, retiro del consentimiento o incumplimiento del estudio.

30 El Exemestano también se suministrará a las pacientes por vía oral.

#### *Estado médico o enfermedad bajo investigación*

35 El estudio propuesto en el presente documento investigará el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico positivo en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR) y negativo en HER2 que es refractario al inhibidor de la aromatasas no esteroideo (letrozol y/o anastrozol).

#### *Criterios de inclusión principales*

40 Se usarán los siguientes criterios para evaluar la inclusión de pacientes en el estudio.

- Cáncer de mama localmente avanzado (CMA) o cáncer de mama metastásico (CMm) confirmado histológicamente no considerado susceptible de cirugía curativa o radioterapia curativa.
- Los tumores positivos en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR).
- Los tumores deben ser negativos en HER2 según las pruebas de laboratorio locales.
- Debe tener tejido tumoral de archivo adecuado de una cirugía o biopsia.
- Mujeres postmenopáusicas.
- Evidencia objetiva de recurrencia o de enfermedad progresiva en o después de la última línea de terapia sistémica para el cáncer de mama antes de entrar en el estudio.
- La paciente es refractaria al inhibidor de la aromatasas no esteroideo (letrozol y/o anastrozol).
- Las pacientes deben tener una lesión medible de acuerdo con RECIST versión 1.1 o solo lesiones óseas: líticas o mixtas (líticas + escleróticas) en ausencia de lesión medible como se ha definido anteriormente.
- Puntuación de rendimiento del Grupo de Oncología Cooperativo Oriental  $\leq 2$ .
- Esperanza de vida de  $\geq 6$  meses en opinión del investigador.
- Glucosa en plasma en ayunas  $< 8,9$  mmol/l ( $< 160$  mg/dl) y HbA1c  $< 8,0$  %.
- Función adecuada del órgano.
- Recuperada de cualquier toxicidad relacionada con la terapia previa hasta  $\leq$  Grado 1 al entrar en el estudio (excepto la neuropatía sensorial estable  $\leq$  Grado 2 y alopecia).
- Consentimiento informado por escrito que sea coherente con las pautas de ICH-GCP y las regulaciones locales. Los criterios de inclusión para el subestudio de las biopsias son idénticos al estudio principal de la parte de la Fase II, excepto por los dos siguientes criterios de inclusión:
- Se debe tomar una nueva biopsia tumoral cuando el investigador lo considere seguro y factible y con el consentimiento informado del paciente. No se recomienda la lesión ósea para la biopsia.
- Las pacientes aptas para someterse a una biopsia tumoral deben tener parámetros de coagulación normales (INR y PTT dentro del intervalo normal).

#### *Criterios de exclusión principales*

60 Se usarán los siguientes criterios para evaluar la exclusión de pacientes en el estudio.

- Tratamiento previo con agentes dirigidos a la vía de IGF, la vía de señalización de fosfoinositida 3-quinasa (PI3K), la vía de la proteína quinasa B (AKT) o la vía de la diana en mamíferos de la rapamicina (mTOR).

- Tratamiento previo con exemestano.
- Hipersensibilidad conocida hacia el anticuerpo monoclonal, hacia los inhibidores de mTOR (por ejemplo, sirolimus) o hacia los excipientes de cualquier fármaco del estudio.
- Supresión ovárica por radiación ovárica o tratamiento con un agonista de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-HR).
- Menos de una semana después de recibir la inmunización con vacunas vivas atenuadas antes del tratamiento del estudio.
- Radioterapia en el transcurso de las 4 semanas previas al tratamiento inicial, excepto en el caso de la radioterapia localizada con fines analgésicos o para lesiones líticas con riesgo de fractura que luego puede completarse en el transcurso de las dos semanas previas al tratamiento del estudio.
- Quimioterapia, terapia biológica (distinta de bevacizumab), inmunoterapia o agentes de investigación durante la semivida de 5 del fármaco o en el transcurso de las dos semanas previas al inicio del tratamiento del estudio, lo que sea más largo; tratamiento con bevacizumab en el transcurso de las 4 semanas previas al inicio del tratamiento del estudio.
- Tratamiento hormonal para el cáncer de mama en el transcurso de las 2 semanas previas al inicio del tratamiento del estudio.
- Cirugía mayor a juicio del investigador en el transcurso de las 4 semanas antes de comenzar el tratamiento del estudio o programada para la cirugía en el transcurso previsto del estudio.
- Pacientes que reciben agentes inmunosupresores concomitantes o uso de corticosteroides crónicos, excepto aplicaciones tópicas, aerosoles inhalados, gotas oculares o inyecciones locales o pacientes con dosis bajas estables de corticosteroides durante al menos dos semanas antes de la entrada en el estudio.
- Infección crónica por hepatitis B, infección crónica por hepatitis C ni/o portador del VIH conocido.
- Prolongación de QTcF > 470 ms o prolongación de QT considerada clínicamente relevante por el investigador.
- Enfermedad que el investigador considera que progresa rápidamente o que es potencialmente mortal, tal como la enfermedad visceral sintomática extensa, que incluye afectación hepática y diseminación linfagítica pulmonar del tumor.
- Historia de metástasis cerebrales u otras metástasis del SNC.
- Carcinomatosis linfagítica difusa bilateral.
- Hipocalemia de Grado > 1.
- Historia de otra neoplasia maligna primaria en el transcurso de 5 años, a excepción de un carcinoma *in situ* de cuello uterino tratado adecuadamente, carcinoma basocelular o de células escamosas o de útero, o cáncer de piel no melanomatoso.
- Antecedentes familiares de síndrome de QT largo.
- Cualquier enfermedad grave concomitante o disfunción del sistema orgánico que, en opinión del investigador, podría comprometer la seguridad del paciente o interferir en la evaluación de la seguridad y la actividad antitumoral del/de los fármaco/s de prueba.
- Las pacientes que se están tratando con fármacos reconocidos como inhibidores potentes o moderados de CYP3A4 y/o Pgp y/o inductores potentes de CYP3A4 en el transcurso de las 2 semanas anteriores a la entrada en el estudio.
- Las pacientes recibieron más de dos líneas de quimioterapia para el cáncer de mama metastásico o localmente avanzado (para la Fase II: más de una línea).

*Criterios de valoración*

Los puntos finales principales son:

1: Supervivencia libre de progresión (SLP), el punto temporal de la evaluación es de hasta 10,8 meses.

2: Aparición de toxicidad limitante de la dosis (TLD) - parte de la Fase I, el punto temporal de la evaluación es de hasta 28 días.

Los criterios de valoración secundarios son:

1: Tiempo hasta la progresión (TTP), definido como la duración de tiempo desde la fecha de C1V1 hasta la fecha de la primera progresión tumoral objetiva, el punto temporal de la evaluación es de hasta 10,8 meses.

2: Respuesta objetiva (RO), definida como la respuesta completa (RC) o respuesta parcial (RP) (RC + RP), el punto temporal de la evaluación es de hasta 10,8 meses.

3: Tiempo hasta la respuesta objetiva, el punto temporal de la evaluación es de hasta 10,8 meses.

4: Duración de la respuesta objetiva, el punto temporal de la evaluación es de hasta 10,8 meses.

5: Beneficio clínico (BC), definido como la mejor respuesta global de la respuesta completa (RC) o la respuesta parcial (RP), o enfermedad estable (EE)  $\geq$  6 meses, o no RC/No RP durante  $\geq$  6 meses (RC + RP + EE6m + No RC/no RP6m), el punto de tiempo de la evaluación es de hasta 10,8 meses.

6: Duración del beneficio clínico, el punto temporal de la evaluación es de hasta 10,8 meses.

Ejemplo 2: Estudio preliminar del Ac contra el IGF 60833 en combinación con Exemestano y Everolimus frente a Exemestano y Everolimus solos en mujeres con cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.

Se realizaron investigaciones preliminares sobre el efecto de una combinación triple de Ac contra IGF 60833, everolimus y exemestano, frente a una combinación doble de everolimus y exemestano. La investigación se realizó en una estirpe celular de cáncer de mama positivo en ER diseñada para expresar el gen de la aromatasa humano.

La Figura 1 muestra una comparación de la combinación doble de everolimus y exemestano (panel superior) frente a la combinación triple del Ac contra IGF 60833, everolimus y exemestano (panel inferior).

Se puede ver claramente a partir de una comparación de los dos paneles que el Ac contra IGF 60833 causa un aumento sorprendentemente grande en la inhibición del crecimiento celular a la combinación de everolimus y exemestano.

Ejemplo 3: Efecto del Ac contra IGF 60833 en combinación con el inhibidor de mTOR everolimus y el inhibidor de la aromatasa exemestano sobre el crecimiento y el estado de fosforilación de los biomarcadores de la estirpe celular de cáncer de mama MCF7aro.

#### Sumario

El objetivo del presente estudio fue explorar el efecto *in vitro* de la combinación de Ac contra IGF 60833, un anticuerpo completamente humano que se une a IGF-1 e IGF-2, con el inhibidor de mTORC1 everolimus y el inhibidor de la aromatasa exemestano en la proliferación de células MCF7aro, derivadas de la estirpe celular de cáncer de mama positivo en el receptor de estrógeno MCF7, diseñada para expresar de forma estable la proteína humana aromatasa.

Se cultivaron células de cáncer de mama MCF7aro en medio privado de esteroide, Complementado con el precursor de estradiol androstenediona e incubado con Ac contra IGF 60833, everolimus y exemestano como agentes solos o en combinación, para determinar los efectos en la señalización de la vía de PI3K/mTOR, la proliferación celular y la supervivencia celular.

Considerando que el tratamiento de las células MCF7aro con solo everolimus produjo una fosforilación de AKT mejorada, el tratamiento conjunto con Ac contra IGF 60833 evitó el aumento de AKT fosforilada y condujo a una inhibición más pronunciada de la señalización dirección 3'. La combinación triple de Ac contra IGF 60833 con everolimus y exemestano produjo una potenciación de la inhibición del crecimiento celular y la inducción de la apoptosis en comparación con el tratamiento con la combinación dual de everolimus y exemestano.

Este estudio ha demostrado que la adición de Ac contra IGF 60833 a la combinación de everolimus y exemestano, que es la norma asistencial actual de tratamiento del cáncer de mama positivo en receptores hormonales, conduce a una mejor actividad antineoplásica *in vitro*.

#### INTRODUCCIÓN

Tanto el sistema de señalización del factor de crecimiento insulínico (IGF) como la vía de señalización de PI3 quinasa/mTOR desempeñan un papel importante en la regulación de la supervivencia y en la proliferación de células de mamífero.

El sistema de señalización del factor de crecimiento insulínico (IGF) consiste en ligandos (factores de crecimiento insulínico 1 y 2 (IGF-1, IGF-2), proteínas de unión a IGF (IGFBP) y receptores (receptor del factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1R), IGF-2R y receptor de insulina (IR). La evidencia de que dirigirse a IGF puede ser útil en el tratamiento del cáncer se reconoció por primera vez hace décadas. La investigación en la señalización del IGF ha demostrado que controla actividades celulares clave, incluyendo la proliferación, el crecimiento y la supervivencia, y suele desregularse en la neoplasia.

Se ha demostrado que la expresión de IGF-IR aumenta en una variedad de cánceres, incluyendo los cánceres de pulmón, colon, próstata, mama, ovario, hígado y los sarcomas. El sistema del IGF se ha convertido, por tanto, en una diana para el desarrollo de fármacos contra el cáncer. Las estrategias de dirección farmacológica incluyen la inhibición de la función receptora con anticuerpos anti-IGF-1R o inhibidores de la tirosina quinasa receptora de molécula pequeña. El Ac contra IGF 60833 ofrece un enfoque alternativo actuando como un anticuerpo neutralizador de los ligandos del IGF. Además de la expresión del IGF-1R, hay evidencia de expresión autocrina y/o paracrina de los ligandos del IGF, en particular, de IGF-2 autocrino, en múltiples cánceres. También se ha demostrado que IGF-2 se une y señala a través de la isoforma A del receptor de la insulina (IR-A) que se expresa en las células fetales y cancerosas. Por lo tanto, la estrategia de dirigirse a IGF-1 e IGF-2 tiene la posibilidad de obtener un avance terapéutico.

El Ac contra IGF 60833 es un anticuerpo monoclonal completamente humano que se une a IGF-1 e IGF-2 y neutraliza sus efectos biológicos mediante el bloqueo de la interacción con sus receptores afines, con la posible actividad antineoplásica.

5 Una gran cantidad de estudios preclínicos ha evaluado el papel funcional de la serina/treonina quinasa mTOR y de otros componentes de la vía de PI3 quinasa/mTOR en el cáncer. Se ha encontrado la activación de la vía de señalización de PI3 quinasa/mTOR mediante mutación o amplificación de los componentes de la vía en una gran proporción de cánceres de diferente origen, lo que sugiere un papel importante de la hiperactivación de la vía en la etiología de la enfermedad.

10 La mTOR quinasa funciona en dos complejos celulares de múltiples proteínas, mTORC1 y mTORC2, con distintos sustratos y mecanismos de activación, y regula la supervivencia, el crecimiento y la progresión del ciclo celular de las células.

15 Se ha afirmado que la hiperactivación de la vía de PI3K/mTOR produce la resistencia a la terapia convencional, por ejemplo, a la terapia endocrina en el cáncer de mama positivo en receptores hormonales.

La inhibición de mTOR, en combinación con otros agentes, se considera, por lo tanto, un enfoque atractivo para la terapia contra el cáncer.

20 Los derivados de rapamicina (análogos de rapamicina) han sido aprobados para el tratamiento de varios tipos de cáncer. Actúan como inhibidores alostéricos del complejo proteico mTORC1. El análogo de rapamicina everolimus (Afinitor®, Novartis Pharma), en combinación con la terapia endocrina, es decir, el inhibidor de la aromatasas exemestano (Aromasin®, Pfizer Inc.), ha sido aprobado para el tratamiento del cáncer de mama positivo en el receptor de estrógeno (ER).

25 A pesar de que los análogos de rapamicina tales como el everolimus han mostrado actividad clínica en varios tipos de cáncer, los datos preclínicos y clínicos sugieren que, cuando se bloquea mTORC1, puede haber resistencia adquirida mediante la liberación de un bucle de realimentación negativa, produciendo la inducción de la fosforilación de AKT, es decir, la reactivación de la señalización de la vía de PI3 quinasa/mTOR.

30 En un modelo preclínico del sarcoma de Ewing, se observó una mejor eficacia antitumoral cuando se combinó la rapamicina con el Ac contra IGF 60833. Se demostró que el Ac contra IGF 60833 inhibe el aumento inducido por la rapamicina en pAKT, lo que indica que el nivel elevado de pAKT se debió a una mejor señalización impulsada por el ligando de IGF.

35 Conjuntamente, los datos preclínicos, así como la evidencia clínica, indican que la combinación de agentes dirigidos a más de un componente de la vía, conocida como inhibición de la vía vertical, produce un bloqueo más pronunciado y una mejor eficacia contra el cáncer.

#### 40 OBJETIVOS

45 El objetivo del presente estudio fue explorar el efecto *in vitro* de la combinación de Ac contra IGF 60833, con el inhibidor de mTORC1 everolimus y el inhibidor de la aromatasas exemestano en la proliferación de células MCF7aro, derivadas de la estirpe celular de cáncer de mama positivo en el receptor de estrógeno MCF7, diseñada para expresar de forma estable la proteína humana aromatasas.

#### DISEÑO DEL ESTUDIO

50 Se realizaron tres experimentos independientes para determinar el efecto antiproliferativo de Ac contra IGF 60833 en combinación con everolimus y exemestano en células de cáncer de mama MCF7aro. Se determinaron la proliferación celular y la viabilidad después de 6 días de incubación con los compuestos de prueba usando un ensayo de control del entorno reductor de las células vivas en cada pocillo de ensayo.

55 Se evaluó el efecto sobre la señalización de la vía de PI3 quinasa/mTOR mediante análisis de transferencia Western, y se controló la inducción de la apoptosis usando el kit de lisado de células enteras del panel de apoptosis Meso Scale Discovery.

60 El Ac contra IGF 60833 comprende una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40. Su fabricación se ha desvelado en el documento WO 2010/066868.

El Everolimus (EX00100386) como se usa en el presente estudio tiene la estructura química proporcionada en el presente documento.

65 El Exemestano (EX0003557) como se usa en el presente estudio tiene la estructura química proporcionada en el presente documento.

Las células MCF7aro expresan establemente la proteína aromatasa humana. Se derivaron de células de adenocarcinoma de mama humanas positivas en ER MCF7 (ATCC, HTB-22) mediante la transfección del ADNc de aromatasa, la selección de la geneticina (neomicina) y la purificación clónica.

5

## MÉTODOS

### *Cultivo de células*

10 Se cultivaron células MCF7aro en medio de crecimiento MEM complementado con FBS al 10 %, GlutaMAX 2 mM, piruvato sódico 1 mM y Geneticina a 0,1 mg/ml como cultivos en monocapa. Las células se mantuvieron en matraces de cultivo tisular de 175 cm<sup>2</sup> a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % en una atmósfera humidificada.

15 Para los ensayos de proliferación celular y el análisis de transferencia Western, se privaron las células de esteroide durante 72 h mediante cultivo en medio de privación (MEM alfa sin rojo fenol, complementado con FBS al 10 % despojado de carbón vegetal, GlutaMAX 2 mM y piruvato de sodio 1 mM).

### *Ensayo de proliferación celular de células de cáncer de mama MCF7aro de crecimiento adherente*

20 Este ensayo se usó para determinar el efecto inhibitor del Ac contra IGF 60833, everolimus y exemestano sobre la viabilidad y el crecimiento de las células MCF7aro.

25 Condiciones de ensayo: Se separaron las células adherentes con solución de tripsina/EDTA, se volvieron a suspender en medio de privación y se diluyeron a 25.000 células por ml en medio de privación. Se sembraron en placas 200 µl de suspensión celular (5.000 células) por pocillo en cuatro placas estériles Nunc™ Edge de 96 pocillos (excepto los pocillos B1/B2: control de medio, adición de solo 200 µl de medio de privación). Las placas se incubaron durante 48 h en una incubadora humidificada a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 %. Dos días después, se aspiraron los sobrenadantes y se añadieron 150 µl de medio de ensayo (MEM alfa, sin rojo fenol, complementado con FBS al 10 % despojado de carbón vegetal, GlutaMAX 2 mM, piruvato de sodio 1 mM y androstenediona 1 nM) a cada pocillo de cada placa.

30

Adición de compuestos de prueba: Para la combinación de everolimus con exemestano, se añadieron 50 µl/pocillo de medio de ensayo a todos los pocillos. Se añadieron diluciones en serie de factor de dilución de 5 de everolimus (concentración de prueba más alta 50 nM), exemestano (concentración de prueba más alta 200 nM) o DMSO (control celular tratado con vehículo y control de medio) a las células usando el dispensador digital HP D300.

35

Para la combinación triple de everolimus, exemestano y Ac contra IGF 60833, se prepararon 40 nM de solución de Ac contra IGF 60833 en medio de ensayo. Se añadieron 50 µl/pocillo de solución de Ac contra IGF 60833 a las células para producir una concentración de prueba final de 10 nM. Se añadieron 50 µl/pocillo de medio de ensayo a los pocillos de control celular y de control de medio. Se añadieron diluciones en serie de factor de dilución de 5 de everolimus (concentración de prueba más alta 50 nM) y exemestano (concentración de prueba más alta 200 nM) o DMSO a las células usando el dispensador digital HP D300. El volumen final por pocillo fue de 200 µl.

40

La concentración final del disolvente DMSO en los pocillos de prueba fue del 0,1 %. El everolimus y el exemestano se probaron a 5 concentraciones, cada una medida en pocillos duplicados, como agentes individuales o en combinación.

45

Tras 2 días de incubación con los compuestos de prueba en una incubadora humidificada a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 %, se cambió el medio a medio de ensayo nuevo, y se volvieron a añadir los compuestos. Tras 6 días de tiempo de incubación total con los compuestos de prueba, se tiñeron las células con 20 µl de reactivo de viabilidad celular AlamarBlue® para evaluar la viabilidad celular. Se incubaron las placas durante 6 horas a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 % para permitir que las células convirtieran la resazurina en resorufina. A continuación, se midió la intensidad de fluorescencia total de cada pocillo en un contador Wallac VICTOR Multilabel usando una longitud de onda de excitación de 544 nm y midiendo la emisión a 590 nm.

50

En el momento de la adición del compuesto de prueba, se tiñeron las placas celulares no tratadas "tiempo cero" (t = 0) con el reactivo de viabilidad celular AlamarBlue®. Se añadieron 50 µl de medio de ensayo y 20 µl de reactivo de viabilidad celular AlamarBlue® a cada pocillo que contenía células en 150 µl de medio de ensayo. Después de una incubación durante 6 días a 37 C y con CO<sub>2</sub> al 5 %, se midió la intensidad de fluorescencia total.

55

El ensayo AlamarBlue® está diseñado para medir cuantitativamente la viabilidad de las células mediante la incorporación de un indicador de crecimiento fluorométrico/colorimétrico basado en la detección de actividad metabólica. La señal fluorescente es proporcional al número total de células viables.

60

Cuando las células están vivas mantienen un ambiente reductor dentro del citosol. La resazurina, el principio activo del reactivo de viabilidad celular AlamarBlue®, es un compuesto permeable a las células, no tóxico, de color azul y prácticamente no fluorescente. Tras entrar en las células, la resazurina se reduce a resorufina, que es de color rojo y altamente fluorescente. Las células viables convierten de manera continua la resazurina en resorufina, aumentando la fluorescencia global y el color de los medios que rodean a las células.

65

Análisis de los datos: Se tomó la producción del ensayo AlamarBlue® para células de control tratadas con vehículo tras 6 días de incubación, correspondiente al 100 % de viabilidad celular, como la señal de referencia para todos los cálculos posteriores. La viabilidad celular relativa en cultivos tratados con compuestos (Porcentaje de Señal de Control, "PSC") se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula: PSC (t = 144 h) = 100 \* fluorescencia (pocillos de compuestos)/fluorescencia (pocillos de control). Además, para cada cultivo tratado con compuesto, se relacionó la señal de fluorescencia tras la incubación durante 144 horas (PSC (t = 144 h)) con la señal al inicio del tratamiento (PSC (t = 0 h)): PSC (t = 0 h) = 100 \* fluorescencia en t = 0 (pocillos de control)/fluorescencia en t = 144 h (pocillos de control).

Para calcular las curvas de concentración-respuesta, se analizaron los datos de PSC usando una función log-logística de cuatro parámetros sin ninguna limitación superior o inferior. La inhibición relativa del crecimiento celular (% de ICC) en los cultivos tratados con compuesto se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de ICC}^{144 \text{ h}} = \begin{cases} S_t^{144} \geq S_c^0 : & \left[ 1 - \frac{S_t^{144 \text{ h}} - S_c^{0 \text{ h}}}{S_c - S_c} \right] \times 100 \% \\ S_t^{144} < S_c^0 : & \left[ 1 - \frac{S_t^{144 \text{ h}} - S_c^{0 \text{ h}}}{S_c} \right] \times 100 \% \end{cases}$$

$$S_t^{144} = \text{PSC}_{(t=144 \text{ h})}$$

$$S_c^0 = \text{PSC}_{(t=0 \text{ h})}$$

Una ICC de > 0 % y < 100 % refleja un efecto inhibitor del crecimiento parcial en relación con los controles tratados con vehículo, una ICC del 100 % es equivalente al bloqueo completo del crecimiento, y una ICC > 100 % es indicativa de muerte celular neta.

Los resultados son evaluados por una matriz de ICC, representando múltiples concentraciones del compuesto de prueba 1 frente a diferentes concentraciones del compuesto de prueba 2.

*Preparación de lisados celulares y transferencia Western (evaluación del estado de fosforilación de AKT y S6)*

Se sembraron  $1,8 \times 10^6$  células MCF7aro en placas de 10 cm en medio de privación (MEM alfa sin rojo fenol, complementado con FBS al 10 % despojado de carbón vegetal, GlutaMAX 2 mM y piruvato sódico mM). Tras la incubación nocturna, se cambió el medio a medio de ensayo (MEM alfa sin rojo fenol, complementado con FBS al 10 % despojado de carbón, GlutaMAX 2 mM, piruvato de sodio 1 mM y androstenediona 1 nM) y las células se trataron con 100 nM de Ac contra IGF 60833 o 0,32 nM de everolimus o una combinación de anticuerpo e inhibidor de mTORC1. Como control, se trataron las células solo con vehículo (DMSO). A las 24 h del tratamiento, se lisaron las células en hielo con Tampón de lisis de Tris MSD que contenía Tris 20 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton X-100 al 1 %, completado con cócteles inhibidores de proteasa y fosfatasa. Antes de usarse, se añadió PMSF 2 mM recién preparado al tampón.

Se aisló la proteína total y se cuantificó la concentración de proteína mediante el ensayo de proteínas Bradford de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Se separaron 30 µg de proteína total en un gel prefabricado de Bis-Tris al 4-12 % y se transfirieron sobre una membrana de PVDF con el instrumento Trans-Blot® Turbo™ de BIO-RAD.

Se bloquearon las membranas durante 1 hora en leche desnatada al 5 % en 1 x TBS/Tween 20 al 0,1 % a temperatura ambiente y luego se sondearon durante la noche a 4 °C con anticuerpos contra las siguientes proteínas: pAKT (S473), pAKT (T308), AKT, pS6 (S235/236), S6 y actina, que sirvió como control de carga. Se prepararon diluciones de anticuerpos en leche desnatada al 5 %. Después de lavar e incubar con anticuerpo secundario, se visualizaron las proteínas inmunotransferidas usando el reactivo de detección de transferencia Western ECL de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Anticuerpos primarios:

- anti-AKT fosforilada de conejo (S473 (Cell Signaling n.º 9271, 1:1000)
- anti-AKT fosforilada de conejo (T308) (Cell Signaling n.º 2965, 1:1000)
- 5 anti-proteína ribosómica S6 fosforilada de conejo (S235/236) (Cell Signaling n.º 2211, 1:2000)
- anti-AKT de conejo (Cell Signaling n.º 9272, 1:2000)
- anti-proteína ribosómica S6 de conejo (Cell Signaling n.º 2217, 1:2000)
- anti-actina beta de conejo (Dako n.º P0448, 1:1000)

10 Anticuerpo secundario:

anti-IgG de conejo de cabra, conjugado a HRP (Dako n.º P0448, 1:1000)

*Preparación de lisados celulares y transferencia Western (evaluación de PARP escindida)*

15 Se sembraron  $1,5 \times 10^6$  células MCF7aro en placas de 10 cm en medio de privación (MEM alfa sin rojo fenol, complementado con FBS al 10 % despojado de carbón vegetal, GlutaMAX 2 mM y piruvato de sodio 1 mM). Tras la incubación nocturna, se cambió el medio a medio de ensayo (MEM alfa sin rojo fenol, complementado con FBS al 10 % despojado de carbón, GlutaMAX 2 mM, piruvato sódico 1 mM y androstenediona 1 nM) y las células se trataron con vehículo (DMSO) o 1  $\mu$ M de Ac contra IGF 60833, o exemestano 1  $\mu$ M, o everolimus 1  $\mu$ M, o una combinación de

20 exemestano y everolimus, o una combinación de los tres inhibidores. A las 72 h del tratamiento, se lisaron las células en hielo con Tampón de lisis de Tris MSD que contenía Tris 20 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton X-100 al 1 %, completado con cócteles inhibidores de proteasa y fosfatasa. Antes de usarse, se añadió PMSF 2 mM recién preparado al tampón.

25 Se aisló la proteína total y se cuantificó la concentración de proteína mediante el ensayo de proteínas Bradford de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Se separaron 20  $\mu$ g de proteína total en un gel prefabricado de Bis-Tris al 4-12 % y se transfirieron sobre una membrana de PVDF con el instrumento Trans-Blot® Turbo™ de BIO-RAD.

30 Las membranas se bloquearon durante 1 h en leche desnatada al 5 % en 1 x TBS/Tween 20 al 0,1 % a temperatura ambiente y luego se sondearon durante la noche a 4 C con anticuerpos contra PARP y actina, que sirvió como control de carga. Se prepararon diluciones de anticuerpos en leche desnatada al 5 %. Después de lavar e incubar con anticuerpo secundario, se visualizaron las proteínas inmunotransferidas usando el reactivo de detección de

35 transferencia Western ECL de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Anticuerpos primarios:

- anti-PARP de conejo (Cell Signaling n.º 9542, 1:1000)
- 40 anti-actina beta de conejo (Cell Signaling n.º. 4967, 1:3000)
- anti-IgG de conejo de cabra, Conjugado a HRP

Anticuerpo secundario:

45 anti-IgG de conejo de cabra, conjugado a HRP (Dako n.º P0448, 1:1000)

*Determinación de PARP escindida en lisados celulares por el panel de apoptosis MSD*

50 Se prepararon lisados celulares de acuerdo con el protocolo de lisis celular Meso Scale Discovery. Se analizaron 20  $\mu$ g de lisado clarificado por duplicado con el kit de lisado de células enteras del panel de apoptosis MSD, midiendo las señales de PARP escindida, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las placas se leyeron en el lector de placas SECTOR Imager 6000.

RESULTADOS

55 EFECTO EN EL CRECIMIENTO CELULAR DE LAS CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA MCF7ARO

Se determinó la actividad inhibidora de everolimus, exemestano y Ac contra IGF 60833, como agentes individuales o en combinación, sobre la proliferación de células MCF7aro en cultivos en monocapa. Para la combinación de everolimus y exemestano, se probaron 5 concentraciones de cada fármaco como agentes individuales y combinados

60 en un formato matricial. Para la combinación triple, se aplicó la misma distribución para everolimus y exemestano, y se añadió Ac contra IGF 60833 a una concentración fija de 10 nM a cada muestra. Se llevaron a cabo tres experimentos independientes con determinaciones por duplicado para la combinación doble y triple.

65 Después de 6 días de incubación, el everolimus y el exemestano como agentes individuales mostraron una reducción parcial del crecimiento celular dependiente de la dosis con una ICC media máxima del 47 % y 60 %, respectivamente. La combinación de everolimus y exemestano fue más eficaz, es decir, se logró una inhibición casi completa del



crecimiento celular (ICC medio de > 90 %) a 6 proporciones de concentración diferentes, con una ICC media máxima del 103 % a la concentración más alta usada para cada inhibidor.

Los datos de los experimentos individuales y los valores medios de ICC se muestran en la Figura 2.

La adición de una concentración fija de 10 nM de Ac contra IGF 60833 a la combinación de everolimus/exemestano produjo una mejora adicional del efecto antiproliferativo. Se observó una inducción pronunciada de muerte celular neta (ICC media de > 120 %) en 13 proporciones de concentración diferentes, con una ICC media máxima del 149 %, tras 6 días de incubación con compuestos.

Los datos de los experimentos individuales y los valores medios de ICC se muestran en la Figura 3.

#### EFFECTO EN LA FOSFILACIÓN DE AKT Y S6 EN CÉLULAS MCF7ARO

El efecto de Ac contra IGF 60833 y everolimus, como agentes individuales y en combinación, sobre la fosforilación de AKT en la serina 473 (pAKT S473) y en la treonina 308 (pAKT T308), y de S6 (pS6) en la serina 235/236 se controló mediante análisis de transferencia Western de lisados de células MCF7aro preparados 24 horas después del tratamiento.

El tratamiento con solo Ac contra IGF 60833 a 100 nM no produjo la inhibición de la fosforilación de AKT ni de S6. Tras el tratamiento con everolimus a 0,32 nM, se observó una señal de pS6 reducida, mientras que los niveles de pAKT S473 y T308 aumentaron en comparación con el control tratado con vehículo (DMSO). El tratamiento combinado con Ac contra IGF 60833 100 nM y everolimus 0,32 nM redujo aún más los niveles de pS6, es decir, solo se detectó una señal débil y produjo niveles de pAKT S473 y T308 comparables con el control tratado con DMSO (Figura 4).

#### INDUCCIÓN DE LA APÓPTOSIS EN CÉLULAS MCF7ARO

Se analizó la PARP escindida como marcador de la apoptosis mediante transferencia Western y el panel de apoptosis MSD en lisados de células MCF7aro preparados tras el tratamiento con everolimus, exemestano y Ac contra IGF 60833, como agentes individuales o en combinación, durante 72 h. Los niveles de PARP escindida tras el tratamiento con los agentes individuales o la combinación de everolimus y exemestano fueron comparables o solo marginalmente más altos que el nivel en el control tratado con vehículo. El tratamiento con la combinación triple de everolimus, exemestano y Ac contra IGF 60833 dieron como resultado una fuerte inducción de PARP escindida (Figura 5).

#### DISCUSIÓN

A pesar de que los análogos de rapamicina tales como el everolimus han mostrado actividad clínica en varios tipos de cáncer, los datos preclínicos y clínicos sugieren que puede haber resistencia adquirida por la liberación de un bucle de realimentación negativa cuando se bloquea mTORC1. Tras la activación de mTORC1, un mecanismo de realimentación produce la fosforilación de IRS-1, que, a su vez, se degrada, inhibiendo así la vía de señalización. Por el contrario, cuando mTORC1 es bloqueado por la rapamicina o un análogo de rapamicina, se libera el mecanismo de realimentación negativa y se reactiva la vía en dirección 5' de mTORC1, dando lugar a un aumento de la fosforilación de AKT.

En ratones, se descubrió que la rapamicina aumenta la bioactividad del IGF en suero, lo que sugiere que los niveles elevados de IGF en sangre pueden explicar, al menos en parte, los niveles elevados de pAKT inducidos por la rapamicina. En modelos del sarcoma de Ewing, se demostró que el Ac contra IGF 60833 inhibe el aumento inducido por rapamicina en pAKT. Conjuntamente, estos hallazgos sugieren que la elevación de pAKT tras el tratamiento con rapamicina se debió a una potenciación de la señalización dirigida por el ligando de IGF. *In vivo*, la combinación de Ac contra IGF 60833 y rapamicina mostró una mayor actividad antitumoral que cualquiera de los agentes individuales solos.

Estos estudios preclínicos demostraron que la combinación de un análogo de rapamicina con Ac contra IGF 60833 conduce a una inhibición más sostenida de la vía de IGF-1R y puede mejorar la eficacia. Estos datos proporcionan una justificación sólida para evaluar la combinación de Ac contra IGF 60833 con everolimus en el cáncer de mama positivo en estrógeno. El everolimus ha sido aprobado recientemente en combinación con el inhibidor de la aromatasa exemestano en esta indicación.

En el estudio actual, se probó la actividad celular de la combinación triple, everolimus, exemestano y Ac contra IGF 60833, en una estirpe celular de cáncer de mama positivo en receptores de hormonas humanas diseñada para expresar la proteína aromatasa humana (MCF7aro). En condiciones privación de suero, el crecimiento de estas células está respaldado por el estrógeno que es sintetizado intracelularmente por la aromatasa a partir de andrógeno complementado en el medio de crecimiento. Usando este modelo, se puede evaluar *in vitro* la actividad antiproliferativa de los inhibidores de la aromatasa.

El tratamiento de las células MCF7aro con la combinación triple produjo un aumento de la inhibición del crecimiento

celular en comparación con la combinación doble de everolimus y exemestano. El Ac contra IGF 60833 revirtió la fosforilación de AKT inducida por everolimus, y la combinación condujo a una inhibición pronunciada de la vía de señalización de IGF-1R. Considerando que no se observó muerte celular después del tratamiento concomitante con everolimus y exemestano, la adición de Ac contra IGF 60833 a la combinación doble produjo la inducción de la apoptosis.

CONCLUSIÓN

Este estudio ha demostrado que la adición de Ac contra IGF 60833 a la combinación de everolimus y exemestano, que es la norma asistencial actual de tratamiento del cáncer de mama positivo en receptores hormonales, conduce a una mejor actividad antineoplásica *in vitro*.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> Boehringer Ingelheim International GmbH
- <120> Combinación triple de anticuerpos IGF
- <130> P12-0376-PCT
- 20 <160> 46
- <170> BiSSAP 1.0
- 25 <210> 1
- <211> 5
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- 30 <220>
- <221> SOURCE
- <222> 1..5
- <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"
- 35 <400> 1

Asn Tyr Trp Met His  
1 5

- 40 <210> 2
- <211> 17
- <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <220>
- 45 <221> SOURCE
- <222> 1..17
- <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"
- <400> 2
- 50

Gly Ile Ser Gly Trp Ser Ser Trp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

- <210> 3
- <211> 13
- 55 <212> PRT
- <213> *Homo sapiens*
- <220>
- <221> SOURCE
- 60 <222> 1..13

ES 2 755 933 T3

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

<400> 3

Phe Gly Ile Asp Ala Tyr Thr Lys Val Tyr Phe Asp Tyr  
1 5 10

5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

10

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..11

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

15

<400> 4

Ser Gly Asp Asn Ile Pro Leu Lys Tyr Val Ser  
1 5 10

20

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

25

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..7

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

30

<400> 5

Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser  
1 5

35

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

40

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..9

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

45

<400> 6

Gln Ser Trp Ala Ser Thr Gly Val Val  
1 5

50

<210> 7

<211> 122

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

55

<220>

<221> SOURCE

<222> 1..122

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

ES 2 755 933 T3

<400> 7

```

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Phe Gly Ile Asp Ala Tyr Thr Lys Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100     105     110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115     120

```

5 <210> 8  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..107  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

15 <400> 8

```

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

```

20 <210> 9  
 <211> 452  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..452  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

30 <400> 9

ES 2 755 933 T3

Gln Val Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Gly Trp Ser Ser Trp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Phe Gly Ile Asp Ala Tyr Thr Lys Val Tyr Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro  
 115 120 125  
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr  
  
 130 135 140  
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr  
 145 150 155 160  
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro  
 165 170 175  
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr  
 180 185 190  
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn  
 195 200 205  
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser  
 210 215 220  
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 245 250 255  
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 260 265 270  
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 275 280 285  
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr  
 290 295 300  
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 305 310 315 320  
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
 325 330 335  
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 340 345 350  
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val  
 355 360 365  
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 370 375 380  
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 385 390 395 400  
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
 405 410 415  
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 420 425 430  
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 435 440 445  
 Ser Pro Gly Lys  
 450

ES 2 755 933 T3

5 <210> 10  
 <211> 212  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1.212  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 10

```

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1      5      10      15
Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Ile Pro Leu Lys Tyr Val
20      25      30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile His
35      40      45
Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50      55      60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65      70      75      80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Trp Ala Ser Thr Gly Val Val
85      90      95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala
100     105     110
Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn
115     120     125
Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val
130     135     140
Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu
145     150     155     160
Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser
165     170     175
Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser
180     185     190
Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro
195     200     205
Thr Glu Cys Ser
210
  
```

15 <210> 11  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..5  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

25 <400> 11

```

Asn Tyr Trp Met His
1      5
  
```

30 <210> 12  
 <211> 17  
 <212> PRT

ES 2 755 933 T3

<213> *Homo sapiens*

<220>  
 <221> SOURCE  
 5 <222> 1..17  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 12

    Gly Ile Ser Gly Trp Ser Ser Trp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
     1                  5                  10                  15  
     Gly

10

<210> 13  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..13  
 20 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 13

    Phe Gly Ile Asp Ala Tyr Thr Lys Val Tyr Phe Asp Tyr  
     1                  5                  10

25

<210> 14  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

30

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..11  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

35

<400> 14

    Ser Gly Asp Asn Ile Pro Leu Lys Tyr Val Ser  
     1                  5                  10

40

<210> 15  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

45

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..7  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

50

<400> 15

    Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser  
     1                  5

55

<210> 16  
 <211> 11  
 <212> PRT

ES 2 755 933 T3

<213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> SOURCE  
 5 <222> 1..11  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"  
 <400> 16  
  
 Ser Ser Trp Asp Thr Leu Asp Ile Phe Asn Val  
 10 1 5 10  
  
 <210> 17  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 15 <213> *Homo sapiens*  
 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..122  
 20 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"  
 <400> 17  
  
 Gln Val Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr  
 20 25 30  
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Gly Ile Ser Gly Trp Ser Ser Trp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Phe Gly Ile Asp Ala Tyr Thr Lys Val Tyr Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 25  
 <210> 18  
 <211> 109  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 30  
 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..109  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"  
 35  
 <400> 18



ES 2 755 933 T3

```

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

```

<210> 19  
 <211> 452  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..452  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 19

```

Gln Val Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20      25      30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35      40      45
Ser Gly Ile Ser Gly Trp Ser Ser Trp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

```

5

10

15

ES 2 755 933 T3

```

65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85          90          95
Ala Arg Phe Gly Ile Asp Ala Tyr Thr Lys Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
      100         105         110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
      115         120         125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
      130         135         140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
      145         150         155         160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
      165         170         175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
      180         185         190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
      195         200         205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
      210         215         220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
      225         230         235         240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
      245         250         255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
      260         265         270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
      275         280         285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
      290         295         300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
      305         310         315         320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
      325         330         335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
      340         345         350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
      355         360         365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
      370         375         380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
      385         390         395         400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
      405         410         415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
      420         425         430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
      435         440         445
Ser Pro Gly Lys
      450

```

<210> 20  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..214  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

10

<400> 20

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

```

1           5           10           15
Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Ile Pro Leu Lys Tyr Val
                20           25           30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile His
                35           40           45
Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
                50           55           60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65           70           75           80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Trp Asp Thr Leu Asp Ile Phe
                85           90           95
Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
                100           105           110
Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
                115           120           125
Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130           135           140
Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145           150           155           160
Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
                165           170           175
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
                180           185           190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195           200           205
Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

```

```

5 <210> 21
  <211> 5
  <212> PRT
  <213> Homo sapiens

10 <220>
    <221> SOURCE
    <222> 1..5
    <223> /tipo_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

  <400> 21

```

```

15           Asn Tyr Trp Met His
                1           5

```

```

20 <210> 22
  <211> 17
  <212> PRT
  <213> Homo sapiens

  <220>
    <221> SOURCE
    <222> 1..17
    <223> /tipo_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

  <400> 22

```

```

30 Gly Ile Ser Gly Trp Ser Ser Trp Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    1           5           10           15
    Gly

```

ES 2 755 933 T3

<210> 23  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 5  
 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..13  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"  
 10  
 <400> 23  
  
                   Phe Gly Ile Asp Ala Tyr Thr Lys Val Tyr Phe Asp Tyr  
                   1                                  5                                  10  
  
 15  
 <210> 24  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 20  
 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..11  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"  
 25  
 <400> 24  
  
                   Ser Gly Asp Asn Ile Pro Leu Lys Tyr Val Ser  
                   1                                  5                                  10  
  
 30  
 <210> 25  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 35  
 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..7  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"  
 40  
 <400> 25  
  
                   Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser  
                   1                                  5  
  
 45  
 <210> 26  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*  
 50  
 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..11  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"  
 <400> 26  
  
                   Gln Ser Tyr Asp Tyr Phe Pro Lys Phe Val Val  
                   1                                  5                                  10  
 55  
 <210> 27  
 <211> 122

ES 2 755 933 T3

<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<221> SOURCE  
<222> 1..122  
<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 27

```

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

<210> 28  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<221> SOURCE  
<222> 1..109  
<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 28

```

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

<210> 29  
<211> 452  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

<220>  
<221> SOURCE  
<222> 1..452  
<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 29

Gln Val Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1				5					10					15			
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr		
			20					25					30				
Trp	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		
		35					40					45					
Ser	Gly	Ile	Ser	Gly	Trp	Ser	Ser	Trp	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val		
	50				55						60						
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr		
65					70					75					80		
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
			85						90						95		
Ala	Arg	Phe	Gly	Ile	Asp	Ala	Tyr	Thr	Lys	Val	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp		
			100					105					110				
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro		
		115					120					125					
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr		
	130					135					140						
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr		
145				150						155					160		
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro		
			165						170					175			
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr		
			180					185					190				
Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn		
	195					200						205					
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser		
	210					215					220						
Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu		
225					230					235					240		
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu		
				245				250					255				
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser		
			260					265					270				
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu		
	275						280					285					
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr		
	290					295					300						
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn		
305					310					315					320		
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro		
				325					330					335			
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln		
			340					345					350				
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val		
		355					360					365					
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val		
	370					375					380						
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro		
385					390					395					400		
Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr		
				405					410					415			
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val		
			420					425					430				
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu		
	435						440					445					
Ser	Pro	Gly	Lys														
	450																

ES 2 755 933 T3

<210> 30  
 <211> 214  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..214  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

10

<400> 30

```

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1           5           10           15
Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Ile Pro Leu Lys Tyr Val
20           25           30
Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile His
35           40           45
Asp Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50           55           60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
65           70           75           80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Tyr Phe Pro Lys Phe
85           90           95
Val Val Phe Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100          105          110
Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115          120          125
Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130          135          140
Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145          150          155          160
Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165          170          175
Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180          185          190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195          200          205
Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210
    
```

15

<210> 31  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..5  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

25

<400> 31

```

Ser Tyr Trp Met Ser
1           5
    
```

30

<210> 32  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

35

<220>  
 <221> SOURCE

ES 2 755 933 T3

<222> 1..17  
<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

<400> 32

5

Ser Ile Thr Ser Tyr Gly Ser Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
1 5 10 15  
Gly

<210> 33  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10

<220>  
<221> SOURCE  
<222> 1..8  
<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

15

<400> 33

Asn Met Tyr Thr His Phe Asp Ser  
1 5

20

<210> 34  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25

<220>  
<221> SOURCE  
<222> 1..13  
<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

30

<400> 34

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Ser Val Ser  
1 5 10

35

<210> 35  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

40

<220>  
<221> SOURCE  
<222> 1..7  
<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

45

<400> 35

Asp Asn Ser Lys Arg Pro Ser  
1 5

50

<210> 36  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

55

<220>  
<221> SOURCE



ES 2 755 933 T3

<222> 1..11  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

<400> 36

5

Gln Ser Arg Asp Thr Tyr Gly Tyr Tyr Trp Val

1 5 10

<210> 37  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..117  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

15

<400> 37

```

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

20

<210> 38  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

25

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..111  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

30

<400> 38

ES 2 755 933 T3

```

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

```

<210> 39  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

5

<220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..447  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

10

<400> 39

ES 2 755 933 T3

Gln Val Glu Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr  
20 25 30  
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val  
35 40 45  
Ser Ser Ile Thr Ser Tyr Gly Ser Phe Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Ala Arg Asn Met Tyr Thr His Phe Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
100 105 110  
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125  
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140  
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160  
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175  
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190  
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205  
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220  
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
225 230 235 240  
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255  
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270  
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285  
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300  
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320  
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335  
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
340 345 350  
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
355 360 365  
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380  
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400  
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415  
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430  
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 40  
<211> 216  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5

<220>  
<221> SOURCE

ES 2 755 933 T3

<222> 1..216

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

<400> 40

5

```

Asp Ile Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1      5      10
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20
Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35      40      45
Ile Tyr Asp Asn Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50      55      60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65      70      75      80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Arg Asp Thr Tyr Gly
85      90      95
Tyr Tyr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100      105      110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115      120      125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130      135      140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys
145      150      155      160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165      170      175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180      185      190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195      200      205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210      215

```

<210> 41

<211> 121

10

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> SOURCE

15

<222> 1..121

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="Homo sapiens"

<400> 41

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20      25      30
Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35      40      45
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50      55      60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

```

20

ES 2 755 933 T3

```

65          70          75          80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85          90          95
Ala Arg Asp Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
      100         105         110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
      115          120

```

5 <210> 42  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..112  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 42

```

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

```

15

20 <210> 43  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..121  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 43

```

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

```

ES 2 755 933 T3

5 <210> 44  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..112  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 44

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

15 <210> 45  
 <211> 450  
 <212> PRT  
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>  
 <221> SOURCE  
 <222> 1..450  
 <223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

25 <400> 45

ES 2 755 933 T3

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Arg Thr Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Asp Leu Gly Trp Ser Asp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met  
 100 105 110  
 Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr  
 115 120 125  
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser  
 130 135 140  
 Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
 145 150 155 160  
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 165 170 175  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser  
  
 180 185 190  
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys  
 195 200 205  
 Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu  
 210 215 220  
 Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala  
 225 230 235 240  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270  
 Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe  
 290 295 300  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350  
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400  
 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430  
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445  
 Pro Gly  
 450

<210> 46  
 <211> 214  
 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> SOURCE

5

<222> 1..214

<223> /tipo\_mol="proteína" /organismo="*Homo sapiens*"

<400> 46

```

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

           115           120           125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
           130           135           140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145           150           155           160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
           165           170           175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
           180           185           190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
           195           200           205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
           210

```

10



## REIVINDICACIONES

1. Un antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF) para su uso en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama en combinación con exemestano y everolimus, en donde el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra IGF-1 e IGF-2 y que tiene regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada de SEQ ID NO: 11 (HCDR1), SEQ ID NO: 12 (HCDR2) y SEQ ID NO: 13 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 14 (LCDR1), SEQ ID NO: 15 (LCDR2) y SEQ ID NO: 16 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 21 (HCDR1), SEQ ID NO: 22 (HCDR2) y SEQ ID NO: 23 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 24 (LCDR1), SEQ ID NO: 25 (LCDR2) y SEQ ID NO: 26 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 (HCDR1), SEQ ID NO: 32 (HCDR2) y SEQ ID NO: 33 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 34 (LCDR1), SEQ ID NO: 35 (LCDR2) y SEQ ID NO: 36 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 18, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 27 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 38, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 42, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 43 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 20, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 30, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40.
2. El antagonista del receptor de IGF para el uso de la reivindicación 1, en donde el cáncer de mama es cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.
3. El antagonista del receptor de IGF para el uso de la reivindicación 1 o 2, en donde el anticuerpo tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40.
4. El antagonista del receptor de IGF para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la paciente que se va a tratar tiene una o más características seleccionadas entre las siguientes: el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es positivo en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR); el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es negativo en HER2; el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es refractario al inhibidor de la aromatasa no esteroideo (por ejemplo, letrozol y/o anastrozol).
5. El antagonista del receptor de IGF para el uso de la reivindicación 4, en donde la paciente que se va a tratar tiene las siguientes características: el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es positivo en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR); y el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico también es negativo en HER2; y el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico también es refractario al inhibidor de la aromatasa no esteroideo (por ejemplo, letrozol y/o anastrozol).
6. El antagonista del receptor de IGF para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la paciente es una mujer posmenopáusica.
7. El antagonista del receptor de IGF para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la paciente no muestra enfermedad visceral sintomática extensa.
8. Exemestano y everolimus para su uso en el tratamiento de pacientes con cáncer de mama en combinación con un antagonista del receptor del factor de crecimiento insulínico (IGF), en donde el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra IGF-1 e IGF-2 y que tiene regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada de SEQ ID NO: 11 (HCDR1), SEQ ID NO: 12 (HCDR2) y SEQ ID NO: 13 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 14 (LCDR1), SEQ ID NO: 15 (LCDR2) y SEQ ID NO: 16 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 21 (HCDR1), SEQ ID NO: 22 (HCDR2) y SEQ ID NO: 23 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 24 (LCDR1), SEQ ID NO: 25 (LCDR2) y SEQ ID NO: 26 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 (HCDR1), SEQ ID NO: 32 (HCDR2) y SEQ ID NO: 33 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 34 (LCDR1), SEQ ID NO: 35 (LCDR2) y SEQ ID NO: 36 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 18, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 27 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 38, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 42, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 43 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 20, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 30, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40.

9. El exemestano y everolimus para el uso de la reivindicación 8, en donde el cáncer de mama es cáncer de mama localmente avanzado o metastásico.

10. El exemestano y everolimus para el uso de la reivindicación 8 o 9, en donde la paciente que se va a tratar tiene una o más características seleccionadas entre las siguientes: el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es positivo en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR); el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es negativo en HER2; el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es refractario al inhibidor de la aromatasa no esteroideo (por ejemplo, letrozol y/o anastrozol).

11. El exemestano y everolimus para el uso de la reivindicación 10, en donde la paciente que se va a tratar tiene las siguientes características: el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico es positivo en el receptor de estrógeno (ER) y/o el receptor de progesterona (PgR); y el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico también es negativo en HER2; y el cáncer de mama localmente avanzado o metastásico también es refractario al inhibidor de la aromatasa no esteroideo (por ejemplo, letrozol y/o anastrozol).

12. Uso de un antagonista del receptor de IGF para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer de mama, en donde el antagonista del receptor de IGF se va a usar en combinación con exemestano y everolimus, y el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra IGF-1 e IGF-2 y que tiene regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada de SEQ ID NO: 11 (HCDR1), SEQ ID NO: 12 (HCDR2) y SEQ ID NO: 13 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 14 (LCDR1), SEQ ID NO: 15 (LCDR2) y SEQ ID NO: 16 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 21 (HCDR1), SEQ ID NO: 22 (HCDR2) y SEQ ID NO: 23 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 24 (LCDR1), SEQ ID NO: 25 (LCDR2) y SEQ ID NO: 26 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 (HCDR1), SEQ ID NO: 32 (HCDR2) y SEQ ID NO: 33 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 34 (LCDR1), SEQ ID NO: 35 (LCDR2) y SEQ ID NO: 36 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 18, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 27 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 38, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 42, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 43 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 20, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 30, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40.

13. Uso de exemestano y everolimus para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer de mama, en donde el exemestano y el everolimus se van a usar en combinación con un antagonista del receptor de IGF, y el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra IGF-1 e IGF-2 y que tiene regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada de SEQ ID NO: 11 (HCDR1), SEQ ID NO: 12 (HCDR2) y SEQ ID NO: 13 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 14 (LCDR1), SEQ ID NO: 15 (LCDR2) y SEQ ID NO: 16 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 21 (HCDR1), SEQ ID NO: 22 (HCDR2) y SEQ ID NO: 23 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 24 (LCDR1), SEQ ID NO: 25 (LCDR2) y SEQ ID NO: 26 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 (HCDR1), SEQ ID NO: 32 (HCDR2) y SEQ ID NO: 33 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 34 (LCDR1), SEQ ID NO: 35 (LCDR2) y SEQ ID NO: 36 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 18, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 27 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 38, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 42, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 43 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 20, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 30, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40.

14. Composición farmacéutica, que comprende un antagonista del receptor de IGF, y un exemestano y everolimus, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, en donde el antagonista del receptor de IGF es un anticuerpo contra IGF-1 e IGF-2 y que tiene regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada de SEQ ID NO: 11 (HCDR1), SEQ ID NO: 12 (HCDR2) y SEQ ID NO: 13 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 14 (LCDR1), SEQ ID NO: 15 (LCDR2) y SEQ ID NO: 16 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 21 (HCDR1), SEQ ID NO: 22 (HCDR2) y SEQ ID NO: 23 (HCDR3), y regiones determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 24 (LCDR1), SEQ ID NO: 25 (LCDR2) y SEQ ID NO: 26 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene regiones determinantes de la complementariedad de cadena pesada de SEQ ID NO: 31 (HCDR1), SEQ ID NO: 32 (HCDR2) y SEQ ID NO: 33 (HCDR3), y regiones

determinantes de cadena ligera de SEQ ID NO: 34 (LCDR1), SEQ ID NO: 35 (LCDR2) y SEQ ID NO: 36 (LCDR3), o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 18, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 27 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 38, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 42, o un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 43 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 20, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 30, o un anticuerpo que tiene una cadena pesada de SEQ ID NO: 39 y una cadena ligera de SEQ ID NO: 40.

**Fig. 1**

**Everolimus [nM] + Ac contra IGF 60833 10 nM**

(A)

**Combinación doble: Everolimus + Exemestano**

Ex00003557 / Exemastano [nmol/l]	200	60	63	78	79	84	87
	40	48	51	69	70	76	79
	8	11	15	41	42	50	54
	1,6	1	6	33	34	43	48
	0,32	6	10	36	38	46	51
	0		4	32	33	42	47
		0	0,08	0,4	2	10	50
	EX00100386 / Everolimus [nmol/l]						

(B)

**Combinación triple: Everolimus + Exemestano + 60833 (10 nM)**

Exemastano / Acm 10 nM [nmol/l]	200	103	146	157	160	164	166
	40	101	141	152	156	161	163
	8	72	117	129	134	140	143
	1,6	53	104	117	121	126	130
	0,32	61	108	121	127	134	138
	0		74	90	98	101	106
		0	0,08	0,4	2	10	50
	Everolimus / Acm 10 nM [nmol/l]						

**Fig. 2**

A

EXPERIMENTO 1

Exemestano [nM]	200	73	85	109	105	115	113
	40	57	87	87	96	104	105
	8	9	29	57	71	76	72
	1,6	5	-12	29	41	47	53
	0,32	5	0	32	46	60	59
	0		-5	31	45	43	40
		0	0,08	0,4	2	10	50
		Everolimus [nM]					

B

EXPERIMENTO 2

Exemestano [nM]	200	62	73	89	97	98	110
	40	50	66	78	86	90	91
	8	21	22	44	67	67	71
	1,6	2	7	26	40	44	53
	0,32	7	8	22	35	42	46
	0		0	30	27	37	51
		0	0,08	0,4	2	10	50
		Everolimus [nM]					

C

EXPERIMENTO 3

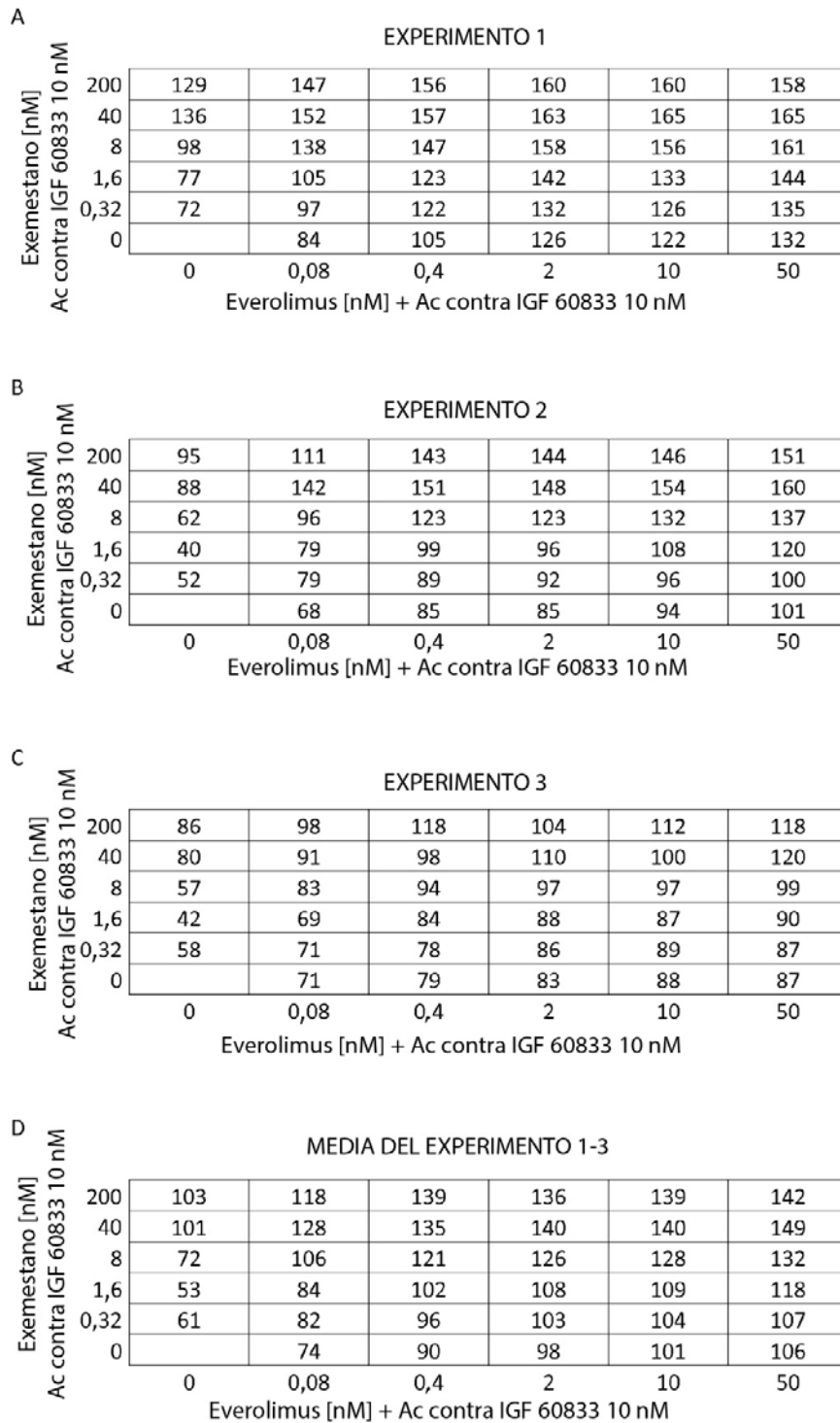
Exemestano [nM]	200	45	65	84	79	82	86
	40	39	67	76	77	80	84
	8	3	23	48	62	61	65
	1,6	-3	18	33	43	42	47
	0,32	5	24	40	41	42	56
	0		19	35	27	46	50
		0	0,08	0,4	2	10	50
		Everolimus [nM]					

D

MEDIA DEL EXPERIMENTO 1-3

Exemestano [nM]	200	60	74	94	94	98	103
	40	48	73	80	86	91	93
	8	11	25	49	67	68	69
	1,6	1	4	30	41	44	51
	0,32	6	10	31	40	48	53
	0		4	32	33	42	47
		0	0,08	0,4	2	10	50
		Everolimus [nM]					

**Fig. 3**



**Fig. 4**

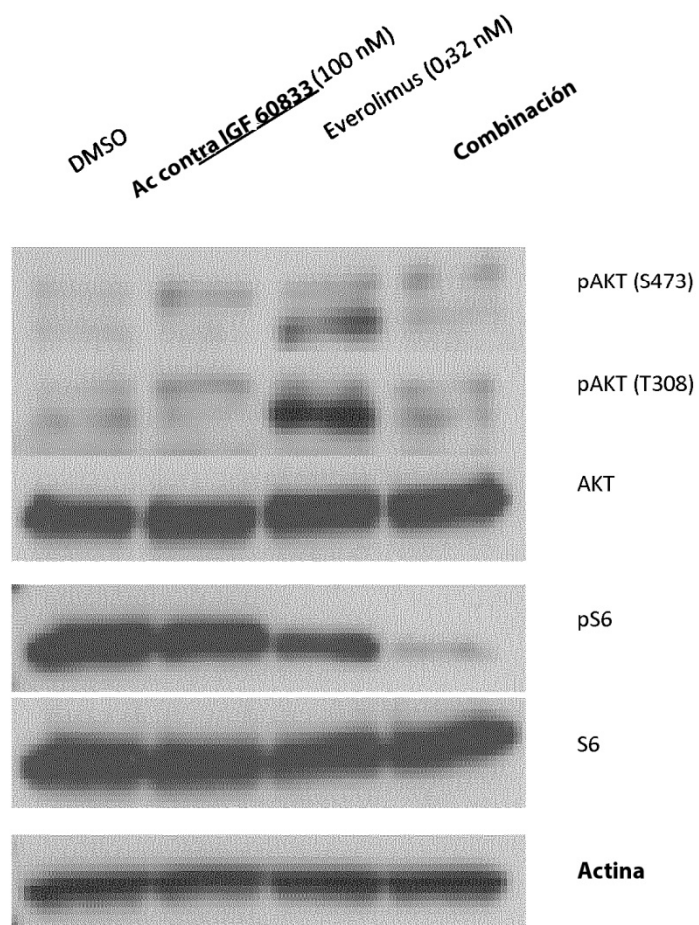


Fig. 5

