

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 756 349**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4745 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61K 31/573 (2006.01)

A61K 31/65 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.02.2015 PCT/US2015/017420**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.09.2015 WO15130728**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2015 E 15755187 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 3110843**

54 Título: **Terapias de combinación con anticuerpos anti-CD-38**

30 Prioridad:

28.02.2014 US 201461946002 P

02.06.2014 US 201462006386 P

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

27.04.2020

73 Titular/es:

JANSSEN BIOTECH, INC. (100.0%)

800/850 Ridgeview Drive

Horsham, PA 19044, US

72 Inventor/es:

DOSHI, PARUL

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 756 349 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).

DESCRIPCION

Terapias de combinación con anticuerpos anti-CD-38

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a terapias de combinación con anticuerpos anti-CD38.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La CD38 es una proteína multifuncional que tiene función en la adhesión y señalización mediada por el receptor, así como en la mediación de la movilización de calcio a través de su actividad ectoenzimática, catalizando la formación de ADP-ribosa cíclica (cADPR) y ADPR. La CD38 media la secreción de citoquinas y la activación y proliferación de linfocitos (Funaro et al., *J Immunol* 145:2390-6, 1990; Terhorst et al., *Cell* 771-80, 1981; Guse et al., *Nature* 398:70-3, 1999). La CD38, a través de su actividad de glicohidrolasa NAD, también regula los niveles extracelulares de NAD⁺, que se han implicado en la modulación del compartimento regulador de células T (Adriouch et al., 14:1284-92, 2012; Chiarugi et al., *Nature Reviews* 12:741-52, 2012) Además de la señalización a través de Ca²⁺, la señalización de CD38 se produce a través de la comunicación cruzada con los complejos de antígeno-receptor en las células T y B u otros tipos de complejos de receptores, por ejemplo, moléculas MHC, que involucran a la CD38 en varias respuestas celulares, pero también en el cambio y la secreción de IgG1.

25 La CD38 es una glicoproteína transmembrana de tipo II expresada en células hemopoyéticas como timocitos medulares, células T y B activadas, células NK y monocitos en reposo, linfoblastos del centro germinal de ganglios linfáticos, células B del plasma, células intrafoliculares y células dendríticas. Una parte de las células de la médula ósea normales, células precursoras particulares, así como las células del cordón umbilical, son positivas para CD38. Además de las células precursoras linfoides, la CD38 se expresa en los eritrocitos y las plaquetas, y la expresión también se encuentra en algunos tejidos sólidos como el intestino, el cerebro, la próstata, los huesos y el páncreas. Las células T y B en reposo maduras expresan CD38 no limitado a la superficie.

30 La CD38 también se expresa en una variedad de enfermedades hematológicas malignas incluyendo mieloma múltiple, leucemias y linfomas, como leucemia linfocítica crónica de células B, leucemia linfocítica aguda de células B y T, macroglobulinemia de Waldenstrom, amiloidosis sistémica primaria, linfoma de células del manto, leucemia pro-linfocítica/mielocítica, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, linfoma folicular, linfoma de Burkitt, leucemia linfocítica granular grande (LGL), leucemia de células NK y leucemia de células plasmáticas. Se ha descrito la expresión de CD38 en células epiteliales/endoteliales de diferente origen, incluyendo el epitelio glandular en próstata, células de islotes en el páncreas, epitelio ductal en glándulas, incluyendo la glándula parótida, células epiteliales bronquiales, células en testículo y ovario y epitelio tumoral en adenocarcinoma colorrectal. Otras enfermedades, donde puede estar implicada la expresión de CD38 incluyen, por ejemplo, carcinomas broncoepiteliales de pulmón, cáncer de mama (que evoluciona a partir de la proliferación maligna de revestimiento epitelial en conductos y lóbulos de la mama), tumores pancreáticos que evolucionan de las células β (insulinomas), tumores que evolucionan del epitelio en el intestino (por ejemplo, adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas), carcinoma en la glándula prostática, y seminomas en los cánceres de testículo y ovario. En el sistema nervioso central, los neuroblastomas expresan CD38.

45 Se ha descrito anteriormente el uso potencial de anticuerpos anti-CD38 en el tratamiento de cánceres (Gopalakrishnan et. al., *Blood And Lymphatic Cancer: Targets And Therapy*, 2013(3):19-24, 2013; Richardson et. al., *Drugs Of The Future*, 38(8):545-554, 2013; De Weers et al., *The Journal of Immunology*, 186(3)1840-1848, 2011; Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2009/076249)

50 Las neoplasias malignas de células B pueden surgir en todos los tejidos linfoides donde normalmente se producen las células B. La mayoría de los pacientes con neoplasias malignas de células B son diagnosticados inicialmente con una enfermedad que involucra médula ósea o los ganglios linfáticos. En el caso de afectación de la médula ósea, las células B transformadas circulan frecuentemente a través de la sangre y se diseminan ampliamente a través de los tejidos linfoides periféricos. Sin embargo, las neoplasias malignas de células B también pueden surgir en algunos tejidos no linfoides, como la tiroides, el tracto gastrointestinal, las glándulas salivales y la conjuntiva.

60 Los tumores malignos de células B bien conocidos incluyen leucemia linfocítica crónica de células B, linfoma de células del manto, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma de células B grandes difuso, mieloma múltiple, linfoma de Hodgkin, leucemia de células pilosas, linfoma de derrame primario y linfoma no de Hodgkin (NHL) relacionado con el SIDA. Las neoplasias malignas de células B comprenden más del 85% de los linfomas diagnosticados.

65 El NHL es una clasificación amplia de linfomas que se originan en el sistema linfático cuando los linfocitos (células B o células T) se vuelven malignos y proliferan sin control para formar una masa tumoral. En total, el NHL

abarca alrededor de 30 subtipos diferentes de linfoma con una variedad de fenotipos y pronósticos. Se proyecta que la incidencia del NHL alcanzará más de 140.000 en los principales países del mercado para el 2019.

El linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) es el subtipo más común agresivo de LNH, representa el 30-40% de las neoplasias linfoides y abarca un conjunto de enfermedades biológica y clínicamente diversas. Los estudios de perfiles de expresión génica sugieren que el DLBCL puede separarse en dos grupos en base a perfiles de expresión génica; Estos grupos se conocen como linfomas de células B del centro germinal (GCB) y linfomas activados de células B (ABC).

El estándar de cuidado para el tratamiento de DLBCL se denomina comúnmente CHOP, una combinación de ciclofosfamida, hidroxidaunorrubicina (doxorubicina), vincristina y prednisona, o R-CHOP, una combinación del anticuerpo anti-CD20 rituximab y CHOP. Además, después de la remisión, se puede considerar el trasplante de células madre hematopoyéticas. Los componentes de CHOP se han descrito previamente en la técnica (Publicaciones de Patente Internacional N° WO 2001/097844, WO 2009/062054 y WO 2009/118142)

A pesar de las opciones de tratamiento actuales, las tasas de supervivencia dentro de los grupos de alto riesgo de NHL agresivo pueden ser tan bajas como del 30% durante 5 años. Por lo tanto, hay una necesidad de tratamientos y tratamientos de combinación eficaces para las neoplasias malignas de células B y NHL.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La invención proporciona un anticuerpo anti-CD38, para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene un tumor maligno hematológico positivo para CD38, en donde el anticuerpo anti-CD38 se administra en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), en donde el anticuerpo anti-CD38:

- i. induce la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis o modulación *in vitro* de la actividad enzimática de CD38;
- ii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente; y
- iii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de las SEQ ID NO: 9, 10 y 11, respectivamente.

Una realización de la divulgación es un método para tratar a un sujeto que tiene una neoplasia maligna hematológica positivo para CD38, que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello un anticuerpo anti-CD38 en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), en donde el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte de las células que expresan CD38 *in vitro* por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis o modulación de la actividad enzimática de CD38.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La **Figura 1A** muestra la eficacia del daratumumab en un modelo derivado de pacientes de linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) solo o en combinación con CHOP o R-CHOP. Se implantaron en ratones SCID/Beige tumores DLBCL resecados. Los tratamientos se iniciaron cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 125-250 mm³. El daratumumab se administró a 20 mg/kg una vez a la semana durante tres semanas. CHOP y R-CHOP se administraron una vez el día 0, excepto que la prednisona se administró los días 0-4 usando los siguientes regímenes: CHOP: (ciclofosfoamida (CTX): 30 mg/kg *i.v.*; doxorubicina: 2.5 mg/kg *i.v.*; vincristina: 0,4 mg/kg *i.v.*); prednisona: 0,15 mg/kg *p. o.*; R-CHOP: rituximab 20 mg/kg *i.p.* DÍA 0. El volumen tumoral se midió cada tres días. El eje Y representa el volumen tumoral ± SEM.

La **Figura 1B** muestra el tiempo de supervivencia mediano representado frente a los días posteriores a la inoculación del tumor del estudio de Figura 1A.

La **Figura 2** muestra la eficacia de daratumumab en un modelo preclínico de linfoma no de Hodgkin solo o en combinación con CHOP. Se implantaron 2x10⁵ células NAMALWA en matrigel en ratones NOD SCID y se inició el tratamiento cuando el tamaño del tumor principal alcanzó aproximadamente 189 mm³. El daratumumab se administró a 10 mg/kg una vez a la semana durante tres semanas. EL CHOP se administró diariamente en los días 0-5 usando las siguientes dosis: ciclofosfoamida (CTX): 5 mg/kg *i. v.* doxorubicina: 0.5 mg/kg *i. v.*; vincristina: 0,08 mg/kg *i. v.* prednisona: 0,03 mg/kg *p. o.* El volumen tumoral se midió cada tres días. El eje Y representa el volumen tumoral ± SEM

La **Figura 3** muestra la eficacia de daratumumab en un modelo preclínico de DLBCL solo o en combinación con CHOP. Se implantaron 5 x 10⁶ células SU-DHL-6 en ratones NOD SCID y el tratamiento inició cuando el tamaño del tumor principal alcanzó aproximadamente 154 mm³. El daratumumab se administró a 10 mg/kg una vez a la semana durante cuatro semanas. El CHOP se administró diariamente en los días 0-5 usando las siguientes dosis: ciclofosfoamida (CTX): 5 mg/kg *i. v.* doxorubicina: 0,5 mg/kg *i. v.*; vincristina: 0,08 mg/kg *i. v.* prednisona: 0,03 mg/kg *p. o.* El tamaño tumoral se representó como media ± SEM.

La **Figura 4** muestra la eficacia de daratumumab en un modelo derivado de pacientes de linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) en combinación con CHOP o R-CHOP administrado simultáneamente o secuencialmente hasta el día 45 del estudio. El daratumumab se administró a 20 mg/kg una vez a la semana durante tres semanas el día 0 o el día 7. El CHOP se administró una vez el día 0, excepto que la prednisona se administró los días 0-4 usando los siguientes regímenes: CHOP: (ciclofosfamida (CTX): 30 mg/kg *i. v.*; doxorubicina: 2,5 mg/kg *i. v.*; vincristina: 0.4 mg/kg *i.v.*); prednisona: 0,15 mg/kg *p.o.* El rituximab se administró a 20 mg/kg *i.p.* tanto en el día 0 como en el día 7. El tamaño tumoral se representó como media \pm SEM. CNTO3930: control de isotipos. Los valores entre paréntesis indican el día de la dosificación. Los datos representan los resultados de un estudio en curso en el día 44.

La **Figura 5** muestra la eficacia de daratumumab en un modelo derivado de pacientes de DLBCL en combinación con CHOP o R-CHOP administrado simultáneamente o secuencialmente hasta el día 101 del estudio. La dosificación fue como en la Figura 4. El tamaño tumoral se representó como media \pm SEM. CNTO3930: control de isotipo. Los valores entre paréntesis indican el día de la dosificación. Las diferencias estadísticas en el volumen tumoral se determinaron usando un ANOVA unidireccional de dos colas seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett que compara los grupos de agentes individuales tratados con el control y las combinaciones con el agente estándar. * $P < 0,05$ frente a control, † $P < 0,05$ frente a CHOP, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona; DLBCL, linfoma difuso de células B grandes. IHC, inmunohistoquímica; *i.v.*, intravenoso; *i.p.*, intraperitoneal.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

"CD38" se refiere a la proteína CD38 humana (sinónimos: ADP-ribosil ciclasa 1, cADPr hidrolasa 1, ADP-ribosa hidrolasa cíclica 1). La CD38 humana tiene una secuencia de aminoácidos mostrada en la SEQ ID NO: 1

El término "anticuerpos", como se usa en la presente, se entiende en un sentido amplio e incluye moléculas de inmunoglobulina que incluyen anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales incluyendo anticuerpos monoclonales murinos, humanos, adaptados a humanos, humanizados y quiméricos, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos biespecíficos o multiespecíficos, anticuerpos diméricos, tetraméricos, o multiméricos, y anticuerpos de cadena sencilla.

Las inmunoglobulinas pueden asignarse a cinco clases principales, concretamente, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de la cadena pesada. IgA e IgG se subclasifican además como los isotipos IgA₁, IgA₂, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. Las cadenas ligeras de anticuerpos de cualquier especie de vertebrado pueden asignarse a uno de dos tipos claramente distintos, concretamente, kappa (κ) y lambda (λ), en base a las secuencias de aminoácidos de sus dominios constantes.

El término "fragmentos de anticuerpos" se refiere a una porción de una molécula de inmunoglobulina que retiene el sitio de unión al antígeno de la cadena pesada y/o la cadena ligera, como las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR) 1, 2 y 3, las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera (LCDR) 1, 2 y 3, una región variable de la cadena pesada (VH) o una región variable de la cadena ligera (VL). Los fragmentos de anticuerpos incluyen un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste de los dominios VL, VH, CL y CHI; un fragmento F(ab)₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab enlazados por un puente de disulfuro en la región bisagra; un fragmento Fd que consiste de los dominios VH y CHI; un fragmento Fv que consiste de los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo; un fragmento de anticuerpo de dominio (dAb) (Ward et al., Nature 341:544-546, 1989), que consiste de un dominio VH. Los dominios de VH y VL pueden diseñarse y enlazarse juntos a través de un conector sintético para formar varios tipos de diseños de anticuerpos de cadena sencilla donde los dominios VH/VL se emparejan intramolecularmente o intermolecularmente en aquellos casos en que los dominios de VH y VL se expresan mediante constructos de anticuerpos de cadena sencilla separados, para formar un sitio de unión al antígeno monovalente como Fv de cadena sencilla (scFv) o diacuerpo; descrito por ejemplo en las Publicaciones de Patente Internacional N° WO1998/44001, WO1988/01649, WO1994/13804 y WO1992/01047. Estos fragmentos de anticuerpos se obtienen usando técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica, y los fragmentos se seleccionan para la utilidad de la misma manera que los anticuerpos de longitud completa.

La frase "anticuerpo aislado" se refiere a un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a CD38. Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a CD38 puede tener reactividad cruzada con otros antígenos, como los ortólogos de CD38 humana como CD38 de *Macaca fascicularis* (cynomolgus). Además, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otros materiales celulares y/o químicos.

Una región variable de anticuerpo consiste de una región "marco" interrumpida por tres "sitios de unión al antígeno". Los sitios de unión al antígeno se definen usando varios términos, como Regiones Determinantes de la Complementariedad (CDR), tres en la VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) y tres en la VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3), se basan en la variabilidad de secuencia (Wu y Kabat J Exp Med 132:211-50, 1970; Kabat et al Sequences of Proteins

of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991) o "Regiones hipervariables", "HVR", o "HV", tres en la VH (H1, H2, H3) y tres en la VL (L1, L2, L3), se refieren a las regiones de dominios variables de anticuerpos que tienen una estructura hipervariable como se define por Chothia y Lesk Mol Biol 196:901-17, 1987). Otros términos incluyen "IMGT-CDR" (Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003) y "Uso de residuos determinantes de la especificidad" (SDRU) (Almagro, Mol Recognit 17:132-43, 2004). La base de datos International ImMunoGeneTics (IMGT) ([http://www_imgt_org](http://www.imgt.org)) proporciona una numeración y definición estandarizadas de sitios de unión a antígenos. La correspondencia entre las delineaciones CDR, HV e IMGT se describe en Lefranc et al., Dev Comparat Immunol 27:55-77, 2003.

Los "residuos de Chothia" como se usan en la presente son los residuos de VL y VH DE anticuerpos numerados de acuerdo con Al-Lazikani (Al-Lazikani et al., J Mol Biol 273:927-48, 1997).

"Marco" o "secuencias marco" son las secuencias restantes de una región variable distinta de las definidas como sitios de unión al antígeno. Como los sitios de unión al antígeno pueden definirse mediante varios términos como se ha descrito anteriormente, la secuencia de aminoácidos exacta de un marco depende de cómo se definió el sitio de unión al antígeno.

"Anticuerpo humanizado" se refiere a un anticuerpo en el que los sitios de unión al antígeno se derivan de especies no humanas y los marcos de región variable se derivan de secuencias de inmunoglobulina humana. Los anticuerpos humanizados pueden incluir sustituciones en las regiones marco para que el marco no sea una copia exacta de la inmunoglobulina humana expresada o las secuencias de genes de la línea germinal.

Los anticuerpos "adaptados a humanos" o los anticuerpos "adaptados al marco humano (HFA)" se refieren a anticuerpos humanizados adaptados de acuerdo con los métodos descritos en la Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2009/0118127. Los anticuerpos adaptados a humanos se humanizan seleccionando los marcos humanos aceptores en base a las similitudes máximas de CDR y FR, compatibilidades de longitud y similitudes de secuencia de giros de CDR1 y CDR2 y una parte de giros de CDR3 de cadena ligera.

"Anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo que tiene regiones variables de cadena pesada y ligera en las que tanto el marco como los sitios de unión al antígeno se derivan de secuencias de origen humano. Si el anticuerpo contiene una región constante, la región constante también se deriva de secuencias de origen humano.

Un anticuerpo humano comprende regiones variables de cadena pesada o ligera que se "derivan de" secuencias de origen humano donde las regiones variables del anticuerpo se obtienen de un sistema que usa inmunoglobulina de la línea germinal humana o genes de inmunoglobulina reorganizados. Tales sistemas incluyen bibliotecas de genes de inmunoglobulina humana que se presentan en fagos y animales no humanos transgénicos como ratones que llevan loci de inmunoglobulina humana como se describe en la presente. Un anticuerpo humano puede contener diferencias de aminoácidos cuando se compara con la línea germinal humana o las secuencias de inmunoglobulina reorganizadas debido a, por ejemplo, mutaciones somáticas de origen natural o la introducción intencionada de sustituciones en el marco o sitios de unión al antígeno. Típicamente, un anticuerpo humano es por lo menos aproximadamente un 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntico en la secuencia de aminoácidos a una secuencia de aminoácidos codificada por una línea germinal humana o un gen de inmunoglobulina reorganizado. En algunos casos, un anticuerpo humano puede contener secuencias marco de consenso derivadas de análisis de secuencias marco humanas, por ejemplo, como se describe en Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000), o HCDR3 sintético incorporado en bibliotecas de genes de inmunoglobulina humana que se muestran en fagos, por ejemplo como se describe en Shi et al., J Mol Biol 397:385-96, 2010 y la Publicación de Patente Internacional N° WO2009/085462). Los anticuerpos en los que los sitios de unión al antígeno se derivan de una especie no humana no se incluyen en la definición de anticuerpo humano.

Los anticuerpos humanizados aislados pueden ser sintéticos. Los anticuerpos humanos, aunque se derivan de secuencias de inmunoglobulina humana, pueden generarse usando sistemas como presentación de fagos incorporando CDR sintéticos y/o marcos sintéticos, o pueden someterse a mutagénesis *in vitro* para mejorar las propiedades de los anticuerpos, dando como resultado anticuerpos que no existen naturalmente en el repertorio de la línea germinal de anticuerpos humana *in vivo*.

El término "anticuerpo recombinante", como se usa en la presente, incluye todos los anticuerpos que se preparan, expresan, crean o aíslan por medios recombinantes como anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico o transcromosómico para genes de inmunoglobulina humana o un hibridoma preparado a partir del mismo (descrito más adelante), anticuerpos aislados de una célula huésped transformada para expresar el anticuerpo, anticuerpos aislados a partir de una biblioteca de anticuerpos combinatorios recombinantes y anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias de genes de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN, o anticuerpos que se generan *in vitro* usando el intercambio del brazo Fab, como los anticuerpos biespecíficos.

El término "anticuerpo monoclonal" como se usa en la presente se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpos de composición molecular única. Una composición de anticuerpo monoclonal muestra una especificidad y afinidad de unión únicas para un epítipo particular, o en el caso de un anticuerpo monoclonal biespecífico, una especificidad de unión doble a dos epítipos distintos.

5

El término "epítipo", como se usa en la presente, significa una porción de un antígeno a la que se une específicamente un anticuerpo. Los epítipos habitualmente consisten de agrupaciones de superficie químicamente activas (como polares, no polares o hidrófobas) de fracciones como cadenas laterales de aminoácidos o polisacáridos y pueden tener características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Un epítipo puede estar compuesto de aminoácidos contiguos y/o no contiguos que forman una unidad espacial conformacional. Para un epítipo no contiguo, los aminoácidos de diferentes porciones de la secuencia lineal del antígeno se aproximan en un espacio tridimensional a través del pliegue de la molécula de proteína.

10

"Variante" como se usa en la presente se refiere a un polipéptido o un polinucleótido que difiere de un polipéptido de referencia o un polinucleótido de referencia en una o más modificaciones, por ejemplo, sustituciones, inserciones o deleciones.

15

"Sinergia" o "sinérgico" significan más que el efecto aditivo esperado de una combinación.

20

El término "en combinación con" como se usa en la presente significa que dos o más agentes terapéuticos pueden administrarse a un sujeto juntos en una mezcla, concurrentemente como agentes individuales o secuencialmente como agentes individuales en cualquier orden.

25

Los términos "tratar" o "tratamiento" se refieren tanto al tratamiento terapéutico como a las medidas profilácticas o preventivas, en las que el objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado, como el desarrollo o la propagación de un tumor o células tumorales. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen alivio de los síntomas, disminución de la extensión de la enfermedad, estado de enfermedad estabilizado (es decir, sin empeoramiento), retraso o desaceleración de la progresión de la enfermedad, mejora o paliación del estado de la enfermedad, y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si un sujeto no estaba recibiendo tratamiento. Aquellos con necesidad de tratamiento incluyen aquellos que ya tienen la afección o trastorno así como aquellos propensos a tener la afección o trastorno o aquellos en los que se va a prevenir la afección o trastorno.

30

35

"Inhibe el crecimiento" (por ejemplo, refiriéndose a células, como células tumorales) se refiere a una disminución medible en el crecimiento celular *in vitro* o *in vivo* cuando se pone en contacto con un agente terapéutico o una combinación de agentes terapéuticos o fármacos en comparación con el crecimiento de las mismas células cultivadas en condiciones de control apropiadas bien conocidas por los expertos en la técnica. La inhibición del crecimiento de una célula *in vitro* o *in vivo* puede ser de por lo menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 99% o 100%. La inhibición del crecimiento celular puede producirse por una variedad de mecanismos, por ejemplo, por toxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis, necrosis o inhibición de la proliferación celular.

40

45

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a las dosificaciones y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado terapéutico deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar de acuerdo con factores como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad de un agente terapéutico o una combinación de agentes terapéuticos para obtener una respuesta deseada en el individuo. Los indicadores ejemplares de un agente terapéutico o una combinación de agentes terapéuticos eficaces incluyen, por ejemplo, el bienestar mejorado del paciente, la reducción de la carga tumoral, el crecimiento detenido o ralentizado de un tumor, y/o la ausencia de metástasis de células cancerosas en otras localizaciones en el cuerpo.

50

La invención se refiere a métodos para tratar pacientes que tienen neoplasia hematológica positiva para CD38. La invención se basa en el descubrimiento de que un anticuerpo anti-CD38 administrado en combinación con CHOP o R-CHOP proporciona una eficacia terapéutica sinérgicamente potente *in vivo* en modelos tumorales relevantes de neoplasia hematológica.

55

La invención divulgada en la presente es un anticuerpo anti-CD38, para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene una neoplasia maligna hematológica positiva para CD38, en donde el anticuerpo anti-CD38 se administra en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), en donde el anticuerpo anti-CD38:

60

(i) induce la destrucción de células que expresan CD38 *in vitro* por citotoxicidad mediada por células

65

dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis o modulación *in vitro* de la actividad enzimática de CD38;
 (ii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente; y
 (iii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de las SEQ ID NO: 9, 10 y 11, respectivamente.

En algunas realizaciones de la invención divulgada en la presente, incluyendo las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 induce la destrucción *in vitro* de las células que expresan CD38 por ADCC o CDC.

"Neoplasia maligna hematológica positiva para CD38" se refiere a una neoplasia maligna hematológica caracterizada por la presencia de células tumorales que expresan CD38 incluyendo leucemias, linfomas y mieloma. Los ejemplos de tales neoplasias malignas hematológicas positivas para CD38 incluyen leucemia/linfoma linfoblástico de células B precursoras y linfoma no de Hodgkin de células B; leucemia promielocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda y neoplasmas de células B maduras, como leucemia linfocítica crónica (CLL) de células B/linfoma linfocítico pequeño (SLL), leucemia linfocítica aguda de células B, leucemia prolinfocítica de células B, linfoma linfoplasmacítico, linfoma de células del manto (MCL), linfoma folicular (FL), incluyendo FL de grado bajo, intermedio y alto, linfoma del centro del folículo cutáneo, linfoma de células B de la zona marginal (tipo MALT, tipo nodal y esplénico), leucemia de células pilosas, linfoma de células B grandes difuso (DLBCL), linfoma de Burkitt (BL), plasmacitoma, mieloma múltiple, leucemia de células plasmáticas, trastorno linfoproliferativo pos-trasplante, macroglobulinemia de Waldenstrom, leucemias de células plasmáticas y linfoma de células grandes anaplásico (ALCL).

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD-38 es mieloma múltiple.

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD-38 es linfoma difuso de células B grandes (DLBCL).

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD-38 es linfoma no de Hodgkin.

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD-38 es leucemia linfoblástica aguda (ALL).

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD-38 es linfoma folicular (FL).

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD-38 es el linfoma de Burkitt (BL).

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD-38 es linfoma de células del manto (MCL).

En una realización de la invención divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es mieloma múltiple, leucemia linfoblástica aguda (ALL), linfoma no de Hodgkin, linfoma de células B grandes difuso (DLBCL), linfoma de Burkitt (BL), linfoma folicular (FL) o linfoma de células del manto (MCL).

Ejemplos de linfomas no de Hodgkin de células B son la granulomatosis linfomatoide, el linfoma de derrame primario, el linfoma de células B grandes intravascular, el linfoma de células B grandes mediastínico, las enfermedades de la cadena pesada (incluyendo enfermedad γ , μ y α), los linfomas inducidos por la terapia con agentes inmunosupresores, como el linfoma inducido por ciclosporina y el linfoma inducido por metotrexato.

En una realización de la presente invención, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el trastorno que implica a las células que expresan CD38 es el linfoma de Hodgkin.

Otros ejemplos de trastornos que involucran células que expresan CD38 incluyen neoplasias malignas derivadas de células T y NK, que incluyen: neoplasias de células T y células NK maduras incluyendo leucemia prolinfocítica de células T, leucemia linfocítica granular de células T grandes, leucemia de células NK agresiva, leucemia/linfoma de células T adultas, linfoma extranodal de células NK/T, tipo nasal, linfoma de células T tipo

enteropatía 78, linfoma hepatoesplénico de células T, linfoma subcutáneo de células T tipo panniculitis, linfoma de células NK blásticas, micosis fungoide/síndrome de Sezary, trastornos linfoproliferativos de células T positivas para CD30 cutáneos primarios (linfoma de células grandes anaplásico cutáneo primario C-ALCL, papulosis linfomatoide, lesiones límite), linfoma de células T angioinmunoblástico, linfoma periférico de células T no especificado, y linfoma anaplásico de células grandes.

Los ejemplos de neoplasias malignas derivadas de células mieloides incluyen leucemia mieloides aguda, incluyendo la leucemia promielocítica aguda, y enfermedades mieloproliferativas crónicas, incluyendo la leucemia mieloides crónica.

Puede usarse cualquier anticuerpo anti-CD38 en los métodos que se divulgan en la presente, incluido en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, siempre que el anticuerpo anti-CD38 induzca la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis, o modulación de la actividad enzimática de CD38. Las regiones variables de los anticuerpos anti-CD38 pueden obtenerse a partir de anticuerpos anti-CD38 existentes y clonarse como anticuerpos de longitud completa usando métodos estándar. Las regiones variables ejemplares que se unen a CD38 que pueden usarse se describen, por ejemplo, en las Publicaciones de Patente Internacional N° WO05/103083, WO06/125640, WO07/042309, WO08/047242, WO12/092612, WO06/099875 y WO11/154453A1.

Un anticuerpo anti-CD38 ejemplar que puede usarse es el daratumumab. El daratumumab comprende las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (VH) y una región variable de la cadena ligera (VL) mostradas en las SEQ ID NO: 4 y 5, respectivamente, las CDR de cadena pesada HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente, y las CDR de cadena ligera LCDR1, LCDR2 y LCDR3 de las SEQ ID NO: 9, 10 y 11, respectivamente, y es del subtipo IgG1/k. La secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de daratumumab se muestra en la SEQ ID NO: 12 y la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera se muestra en la SEQ ID NO: 13.

SEQ ID NO: 1

MANCEFSPVSGDKPCCRLSRRAQLCLGVSILVLILVVVLAVVVPRWRQQWSPGPT
TKRFPETVLARCVKYTEIHPEMRHVDCQSVWDAFKGAFISKHPCNITEEDYQPLM
KLGQTQVPCNKILLWSRIKDLAQFTQVQRDMFTLEDTLLGYLADDLTWCGEFN
TSKINYQSCPDWRKDCSNPVSFVWKTVSRRFAEAACDVVHVMLNGSRSKIFDK
NSTFGSVEVHNLQPEKVQTLAWVIHGGREDSRDLCQDPTIKELESIIISKRNIFSC
KNIYRPDKFLQCVKNPEDSSCTSEI

SEQ ID NO: 2
SKRNIFSCKNIYR

SEQ ID NO: 3
EKVQTLAWVIHGG

SEQ ID NO: 4

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA
ISGSGGGTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK
ILWFGPEVFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 5

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD
ASNRRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGQ
GTKVEIK

ES 2 756 349 T3

SEQ ID NO: 6
SFAMS

5 SEQ ID NO: 7
AISGSGGGTTYADSVKG

SEQ ID NO: 8
DKILWFGPEVFDY

10 SEQ ID NO: 9
RASQSVSSYLA

SEQ ID NO: 10
DASNRAT

15 SEQ ID NO: 11
QQRSNWPPTF

20 SEQ ID NO: 12
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSG
GGTTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDILWFGPEV
25 DYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPPTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
30 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCVMHEALHN
35 HYTQKSLSLSPGK

40 SEQ ID NO: 13
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKRTVAAP
45 SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

50 Otro anticuerpo anti-CD38 ejemplar que puede usarse es el mAb003 que comprende las secuencias de VH
y VL de las SEQ ID NO: 14 y 15, respectivamente, y se describe en la Patente de Estados Unidos N° 7.829.693.

SEQ ID NO: 14

55 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAFSWVRQAPGQGLEWMGRVIPF
LGIANSAQKFQGRVTITADKSTSTAY
MDLSSLRSEDTAVYYCARDIAALGPFDYWGQGTLLTVSSAS

60 SEQ ID NO: 15
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ
65 EDFATYYCQQYNSYPRTFGQGTKVEIK

Otro anticuerpo anti-CD38 ejemplar que puede usarse es el mAb024 que comprende las secuencias de VH y VL de las SEQ ID NO: 16 y 17, respectivamente, descritas en la Patente de Estados Unidos N° 7.829.693.

SEQ ID NO: 16

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFSNYWIGWVRQMPGKGLEWMGIYPH
DSDARYSPSFQGGQVTFSSADKSISTAY
LQWSSLKASDTAMYCCARHVGWGSRYWYFDLWGRGTLTVSS

SEQ ID NO: 17

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
GIPARFSGSGSGTDFTLTISLPEP
EDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIK

Otro anticuerpo anti-CD38 ejemplar que puede usarse es el MOR-202 (MOR-03087) que comprende las secuencias de VH y VL de las SEQ ID NO: 18 y 19, respectivamente, descritas en la Patente de Estados Unidos N° 8.088.896.

SEQ ID NO: 18

QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVSGISGD
PSNTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFAFWGQGTLTVSS

SEQ ID NO: 19

DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPS
GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAE
DEADYYCQTYTGASLVFGGGTKLTVLGQ

Los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos divulgados en la presente, incluyendo las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, también pueden seleccionarse *de novo* de, por ejemplo, una biblioteca de presentación de fagos, donde el fago está diseñado para expresar inmunoglobulinas humanas o partes de las mismas como Fabs, anticuerpos de cadena sencilla (scFv), o regiones variables de anticuerpos no emparejados o emparejados (Knappik et al., J Mol Biol 296:57-86, 2000; Krebs et al., J Immunol Meth 254:67-84, 2001; Vaughan et al., Nature Biotechnology 14:309-314, 1996; Sheets et al., PITAS (USA) 95:6157-6162, 1998; Hoogenboom y Winter, J Mol Biol 227:381, 1991; Marks et al., J Mol Biol 222:581, 1991). Los dominios variables de unión a CD38 pueden aislarse de, por ejemplo, bibliotecas de presentación de fagos que expresan regiones variables de la cadena pesada y ligera de anticuerpos como proteínas de fusión con la proteína de cubierta pIX del bacteriófago como se describe en Shi et al., J. Mol. Biol. 397:385-96, 2010 y la Publicación Internacional de PCT N° WO09/085462). Las bibliotecas de anticuerpos pueden seleccionarse para la unión al dominio extracelular de CD38 humano, obtenerse clones positivos caracterizados adicionalmente, Fab aislados de los lisados de clones, y posteriormente clonarse como anticuerpos de longitud completa. Tales métodos de presentación en fagos para aislar anticuerpos humanos están establecidos en la técnica. Ver por ejemplo: Patente de Estados Unidos N° 5.223.409; Patente de Estados Unidos N° 5.403.484; y Patente de Estados Unidos N° 5.571.698, Patente de Estados Unidos N° 5.427.908, Patente de Estados Unidos N° 5.580.717, Patente de Estados Unidos N° 5.969.108, Patente de Estados Unidos N° 6.172.197, Patente de Estados Unidos N° 5.885.793; Patente de Estados Unidos N° 6.521.404; Patente de Estados Unidos N° 6.544.731; Patente de Estados Unidos N° 6.555.313; Patente de Estados Unidos N° 6.582.915; y Patente de Estados Unidos N° 6.593.081.

La porción Fc del anticuerpo puede mediar funciones efectoras de anticuerpos como la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Tales funciones pueden estar mediadas por la unión de un dominio(s) efector de Fc a un receptor de Fc en una célula inmune con actividad fagocítica o lítica o por la unión de un dominio(s) efector de Fc a componentes del sistema del complemento. Típicamente, el efecto(s) mediado por las células o los componentes del complemento que se unen a Fc dan como resultado la inhibición y/o el agotamiento de las células objetivo, por ejemplo, células que expresan CD38. Los isotipos de IgG humana IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 muestran capacidad diferencial para funciones efectoras. La ADCC puede estar mediada por IgG1 e IgG3, la

ADCP puede estar mediada por IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, y la CDC puede estar mediada por IgG1 e IgG3.

En los métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 es del isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.

En los métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por ADCC.

En los métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por CDC.

En los métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte de las células que expresan CD38 por ADCP *in vitro*.

En los métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte de las células que expresan CD38 por apoptosis *in vitro*.

En los métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte de células que expresan CD38 por ADCC y CDC *in vitro*.

Aunque no se desea estar vinculado a ninguna teoría particular sobre el mecanismo de acción, se espera que el anticuerpo anti-CD38 de la invención induzca la muerte *in vivo* de las células que expresan CD38 por ADCC, CDC, ADCP, apoptosis o modulación *in vivo* de la actividad enzimática de CD38.

La "citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos" o "citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos" o "ADCC" es un mecanismo para inducir la muerte celular que depende de la interacción de las células objetivo recubiertas de anticuerpos con las células efectoras que poseen actividad lítica, como las células asesinas naturales, monocitos, macrófagos y neutrófilos a través de receptores gamma Fc (FcyR) expresados en células efectoras. Por ejemplo, las células NK expresan FcyRIIIa, mientras que los monocitos expresan FcyRI, FcyRII y FcyRIIIa. La muerte de la célula objetivo recubierta de anticuerpo, como las células que expresan CD38, se produce como resultado de la actividad de la célula efectora a través de la secreción de proteínas y proteasas formadoras de poros de membrana. Para evaluar la actividad de ADCC de un anticuerpo anti-CD38 *in vitro*, el anticuerpo puede añadirse a las células que expresan CD38 en combinación con células efectoras inmunes, que pueden activarse mediante los complejos de antígeno anticuerpo que resultan en la citólisis de la célula objetivo. La citólisis se detecta generalmente mediante la liberación del marcador (por ejemplo, sustratos radiactivos, colorantes fluorescentes o proteínas intracelulares naturales) de las células lisadas. Las células efectoras ejemplares para tales ensayos incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y células NK. Las células objetivo ejemplares incluyen células Daudi (ATCC® CCL-213™) o células tumorales de leucemia o de linfoma de células B que expresan CD38. En un ensayo ejemplar, las células objetivo se marcan con 20 µCi de ⁵¹Cr durante 2 horas y se lavan extensamente. La concentración celular de las células objetivo puede ajustarse a 1 × 10⁶ células/ml, y se añaden anticuerpos anti-CD38 a varias concentraciones. Los ensayos se inician añadiendo células Daudi en una proporción de célula efectoras:objetivo de 40:1. Después de la incubación durante 3 horas a 37° C los ensayos se detuvieron por centrifugación, y la liberación de ⁵¹Cr a partir de células lisadas se midió en un contador de centelleo. El porcentaje de citotoxicidad celular puede calcularse como el % de lisis máxima que puede inducirse añadiendo ácido perclórico al 3% a las células objetivo. Los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos de la invención pueden inducir ADCC en aproximadamente un 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75 %, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% de control (lisis celular inducida por ácido perclórico al 3%).

La "fagocitosis celular dependiente de anticuerpos" ("ADCP") se refiere a un mecanismo de eliminación de células objetivo recubiertas de anticuerpos por internalización por células fagocíticas como macrófagos o células dendríticas. La ADCP *in vitro* puede evaluarse usando macrófagos derivados de monocitos como células efectoras y células Daudi (ATCC® CCL-213™) o células tumorales de leucemia o linfoma de células B que expresan CD38 como células objetivo diseñadas para expresar GFP u otra molécula marcada. Efecto: la proporción de células efectoras:objetivo puede ser, por ejemplo, de 4:1. Las células efectoras pueden incubarse con células objetivo durante 4 horas con o sin anticuerpo anti-CD38. Después de la incubación, las células pueden separarse usando accutasa. Los macrófagos se pueden identificar con anticuerpos anti-CD11b y anti-CD 14 acoplados a un marcador fluorescente, y se puede determinar el porcentaje de fagocitosis en base al % de fluorescencia de GFP en los macrófagos CD11⁺CD14⁺ usando métodos estándar. Los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos de la invención pueden inducir la ADCP en aproximadamente un 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%,

70%, 75 %, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%.

La "citotoxicidad dependiente del complemento", o "CDC", se refiere a un mecanismo para inducir la muerte celular en el que un dominio efector de Fc de un anticuerpo unido al objetivo se une y activa el componente del complemento C1q que a su vez activa la cascada del complemento que lleva a la muerte de la célula objetivo. La activación del complemento también puede dar como resultado el depósito de componentes del complemento en la superficie de la célula objetivo que facilitan la ADCC mediante la unión de receptores del complemento (por ejemplo, CR3) en los leucocitos. La CDC de las células que expresan CD38 puede medirse *in vitro*, por ejemplo, mediante la colocación en placas de células Daudi a 1×10^5 células/pocillo (50 μ l/pocillo) en RPMI-B (RPMI suplementado con BSA al 1%), añadiendo 50 μ l de anticuerpos anti-CD38 a los pocillos a una concentración final entre 0-100 μ g/ml, incubando la reacción durante 15 minutos a temperatura ambiente, añadiendo 11 μ l de suero humano agrupado a los pocillos, e incubando la reacción durante 45 minutos a 37° C. El porcentaje (%) de células lisadas puede detectarse como el % de células teñidas con yoduro de propidio en el ensayo FACS usando métodos estándar. Los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos de la invención pueden inducir la CDC en aproximadamente un 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75 %, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%

La capacidad de los anticuerpos monoclonales para inducir la ADCC puede mejorarse modificando su componente oligosacárido. La IgG1 o IgG3 humana están N-glicosiladas en Asn297 con la mayoría de los glucanos en las formas biantenarias bien conocidas G0, G0F, G1, G1F, G2 o G2F. Los anticuerpos producidos por células CHO no modificadas tienen generalmente un contenido de glucano fucosa de aproximadamente por lo menos el 85%. La eliminación de la fucosa central de los oligosacáridos de tipo complejo biantenario unidos a las regiones Fc mejora la ADCC de los anticuerpos a través de la unión mejorada de FcyRIIIa sin alterar la unión al antígeno o la actividad de la CDC. Tales anticuerpos pueden lograrse usando diferentes métodos que se ha informado que llevan a la expresión de anticuerpos defucosilados relativamente altos que llevan el tipo de complejo biantenario de oligosacáridos Fc, como el control de la osmolalidad del cultivo (Konno et al., *Cytotechnology* 64:249-65, 2012), la aplicación de una línea Lec13 de variante CHO como la línea celular huésped (Shields et al., *J Biol Chem* 277:26733-40, 2002), aplicación de una línea EB66 de variante CHO como la línea celular huésped (Olivier et al., *MAbs*; 2(4), 2010; Epub antes de la impresión; PMID: 20562582), aplicación de una línea celular de hibridoma de rata YB2/0 como la línea celular huésped (Shinkawa et al., *J Biol Chem* 278:3466-3473, 2003), introducción de ARN interferente pequeño específicamente contra el gen α 1,6-fucosiltransferasa (*FUT8*) (Mori et al., *Biotechnol Bioeng* 88:901-908, 2004), o coexpresión de β -1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa III y Golgi α -manosidasa II o un potente inhibidor de alfa-manosidasa I, kifunensina (Ferrara et al., *J Biol Chem* 281:5032-5036, 2006, Ferrara et al., *Biotechnol Bioeng* 93:851-861, 2006; Xhou et al., *Biotechnol Bioeng* 99:652-65, 2008). La ADCC provocada por los anticuerpos anti-CD38 de la invención, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, también puede mejorarse mediante ciertas sustituciones en el anticuerpo Fc. Las sustituciones ejemplares son, por ejemplo, sustituciones en las posiciones de aminoácidos 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 o 430 (numeración de residuos de acuerdo con el índice de la EU) como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 6.737.056.

En algunos métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, los anticuerpos anti-CD38 comprenden una sustitución en el anticuerpo Fc.

En algunos métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, los anticuerpos anti-CD38 comprenden una sustitución en el anticuerpo Fc en las posiciones de aminoácidos 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 o 430 (numeración de residuos de acuerdo con el índice de la EU).

Una realización de la divulgación, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, es un método para tratar a un sujeto que tiene una neoplasia maligna hematológica positiva para CD38, que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello un anticuerpo anti-CD38 en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), en donde el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis o modulación *in vitro* de la actividad enzimática de CD38, en donde el anticuerpo anti-CD38 compite por unirse a CD38 con un anticuerpo que comprende una región variable de la cadena pesada (VH) de la SEQ ID NO: 4 y una región variable de la cadena ligera (VL) de la SEQ ID NO: 5 (daratumumab)

Los anticuerpos pueden evaluarse por su competencia con el daratumumab que tiene la VH de SEQ ID NO: 4 y la VL de SEQ ID NO: 5 para unirse a CD38 usando métodos *in vitro* bien conocidos. En un método ejemplar, las células CHO que expresan CD38 recombinantemente pueden incubarse con daratumumab sin marcar durante 15 minutos a 4° C, seguido de incubación con un exceso de anticuerpo de prueba marcado con fluorescencia durante 45 minutos a 4° C. Después de lavar en PBS/BSA, la fluorescencia se puede medir por citometría de flujo usando métodos estándar. En otro método ejemplar, la porción extracelular de CD38 humana puede recubrirse en la superficie de una placa ELISA. El exceso de daratumumab no marcado puede añadirse durante aproximadamente

15 minutos y posteriormente pueden añadirse anticuerpos de prueba biotinilados. Después de los lavados en PBS/Tween, la unión de los anticuerpos de prueba biotinilados puede detectarse usando estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) y la señal detectada usando métodos estándar. Es evidente que en los ensayos de competición, el daratumumab puede estar marcado y el anticuerpo de prueba no marcado. El anticuerpo de prueba compite con el daratumumab cuando el daratumumab inhibe la unión del anticuerpo de prueba, o el anticuerpo de prueba inhibe la unión de daratumumab en un 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%. El epítipo del anticuerpo de prueba puede definirse adicionalmente, por ejemplo, mediante mapeo de péptidos o ensayos de protección de hidrógeno/deuterio usando métodos conocidos.

Otra realización divulgada en la presente, incluida en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, es un método para tratar a un sujeto que tiene una neoplasia maligna hematológica positiva para CD38, que comprende administrar a un paciente con necesidad de ello un anticuerpo anti-CD38 que se une a la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de CD38 humana (SEQ ID NO: 1) en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), en donde el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis o modulación *in vitro* de la actividad enzimática de CD38. El epítipo del anticuerpo incluye algunos o todos los residuos en estas regiones que tienen las secuencias mostradas en la SEQ ID NO: 2 o la SEQ ID NO: 3. En algunas realizaciones divulgadas en la presente, incluidas en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el epítipo de anticuerpo comprende por lo menos un aminoácido en la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y por lo menos un aminoácido en la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de CD38 humana (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones divulgadas en la presente, incluidas en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el epítipo de anticuerpo comprende por lo menos dos aminoácidos en la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y por lo menos dos aminoácidos en la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de la CD38 humana (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones divulgadas en la presente, incluidas en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el epítipo de anticuerpo comprende por lo menos tres aminoácidos en la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y por lo menos tres aminoácidos en la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de CD38 humana (SEQ ID NO: 1). En algunas realizaciones divulgadas en la presente, incluidas en las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 se une a un epítipo que comprende por lo menos KRN en la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y que comprende por lo menos VQLT (SEQ ID NO: 20) en la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de CD38 humana (SEQ ID NO: 1).

En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 se une a un epítipo que comprende por lo menos KRN en la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y que comprende por lo menos VQLT (SEQ ID NO: 20) en la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de la CD38 humana (SEQ ID NO: 1).

Un anticuerpo ejemplar que se une a la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de la CD38 humana (SEQ ID NO: 1) o mínimamente a los residuos KRN y VQLT (SEQ ID NO: 20) como se ha mostrado anteriormente es daratumumab que tiene ciertas secuencias de VH, VL y CDR como se ha descrito anteriormente. Los anticuerpos que se unen a la región SKRNIQFSCKNYR (SEQ ID NO: 2) y la región EKVQTLEAWVIHGG (SEQ ID NO: 3) de CD38 humana (SEQ ID NO: 1) pueden generarse, por ejemplo, inmunizando ratones con péptidos que tienen las amino secuencias de ácido mostradas en las SEQ ID NO: 2 y 3 usando métodos estándar y como se describe en la presente. Los anticuerpos pueden evaluarse adicionalmente, por ejemplo, mediante ensayos de competición entre el daratumumab y un anticuerpo de prueba para la unión a CD38 como se ha descrito anteriormente.

En los métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 puede unirse a CD38 humana con un intervalo de afinidades (K_D). En una realización de acuerdo con la invención, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 se une a CD38 con alta afinidad, por ejemplo, con una K_D igual o inferior a aproximadamente 10^{-7} M, como, pero no limitado a, 1-9,9 (o cualquier intervalo o valor en el mismo, como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9) $\times 10^{-8}$, 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} , 10^{-13} , 10^{-14} , 10^{-15} o cualquier intervalo o valor en el mismo, como se determina por resonancia de plasmones de superficie o el método Kinexa, como se practica por los expertos en la técnica. Una afinidad ejemplar es igual o inferior a 1×10^{-8} M. Otra afinidad ejemplar es igual o inferior a 1×10^{-9} M.

En algunos métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 tiene una estructura de glucano biantenarico con un contenido de fucosa de aproximadamente entre el 0% y aproximadamente el 15%, por ejemplo el 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0%.

En algunos métodos descritos en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las

realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 tiene una estructura de glucano biantenarico con un contenido de fucosa de aproximadamente el 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2 %, 1% o 0%

5 Las sustituciones en el Fc y el contenido reducido de fucosa pueden mejorar la actividad ADCC del anticuerpo anti-CD38.

10 "Contenido de fucosa" significa la cantidad de monosacárido de fucosa dentro de la cadena de azúcar en Asn297. La cantidad relativa de fucosa es el porcentaje de estructuras que contienen fucosa relacionadas con todas las glicoestructuras. Estas pueden caracterizarse y cuantificarse mediante múltiples métodos, por ejemplo: 1) usando MALDI-TOF de muestra tratada con N-glucosidasa F (por ejemplo, estructuras complejas, híbridas y de manosa oligo y alta) como se describe en la Publicación de Patente Internacional N° WO2008/077546; 2) por liberación enzimática de los glicanos Asn297 con posterior derivatización y detección/cuantificación por HPLC (UPLC) con detección de fluorescencia y/o HPLC-MS (UPLC-MS); 3) análisis de proteína intacta del mAb nativo o reducido, con o sin tratamiento de los glicanos Asn297 con Endo S u otra enzima que escinde entre el primer y el segundo monosacárido GlcNAc, dejando la fucosa unida al primer GlcNAc; 4) digestión del mAb a péptidos constituyentes por digestión enzimática (por ejemplo, tripsina o endopeptidasa Lys-C), y la posterior separación, detección y cuantificación por HPLC-MS (UPLC-MS); o 5) separación de los oligosacáridos del mAb de la proteína del mAb por desglicosilación enzimática específica con PNGasa F en Asn 297. Los oligosacáridos liberados pueden marcarse con un fluoróforo, separarse e identificarse mediante varias técnicas complementarias que permiten la caracterización excelente de las estructuras de glucano por espectrometría de masas por desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI) mediante comparación de las masas experimentales con las masas teóricas, la determinación del grado de sialilación por HPLC de intercambio de iones (GlycoSep C), separación y cuantificación de las formas de oligosacáridos de acuerdo con criterios de hidrofiliadad por HPLC de fase normal (GlycoSep N), y separación y cuantificación de los oligosacáridos por electroforesis capilar de alto rendimiento-fluorescencia inducida por laser (HPCE-LIF).

25 "Fucosa baja" o "bajo contenido de fucosa", como se usa en la solicitud, se refiere a anticuerpos con un contenido de fucosa de aproximadamente el 0%-15%.

30 "Fucosa normal" o "contenido de fucosa normal" como se usa en la presente se refiere a anticuerpos con un contenido de fucosa de aproximadamente más del 50%, típicamente aproximadamente más del 60%, 70%, 80% o más del 85%.

35 Los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, pueden inducir la muerte de células positivas para CD38 *in vitro* por apoptosis. Los métodos para evaluar la apoptosis son bien conocidos e incluyen, por ejemplo, la tinción de anexina IV usando métodos estándar. Los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos de la invención pueden inducir apoptosis en aproximadamente un 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% de las células.

40 Los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, pueden inducir la muerte de células positivas para CD38 mediante la modulación de la actividad enzimática de CD38. La CD38 es un ectoenzima multifuncional con actividad de ADP-ribosil ciclasa 1 que cataliza la formación de ADP-ribosa cíclica (cADPR) y ADPR a partir de NAD⁺, y también funciona para hidrolizar NAD⁺ y cADPR a ADPR. La CD38 también cataliza el intercambio del grupo nicotinamida de NADP⁺ con ácido nicotínico bajo condiciones ácidas, para producir NAADP⁺ (ácido nicotínico-adenina dinucleótido fosfato). La modulación de la actividad enzimática de CD38 humana con anticuerpos anti-CD38 de la invención puede medirse en un ensayo descrito en Graeff et al., J. Biol. Chem 269, 30260-30267 (1994). Por ejemplo, el sustrato NGD⁺ puede incubarse con CD38, y la modulación de la producción de GDP-ribosa cíclica (cGDPR) puede monitorizarse espectrofotométricamente a la excitación a 340 nM y la emisión a 410 nM en diferentes puntos temporales después de la adición del anticuerpo a varias concentraciones. La inhibición de la síntesis de cADPR puede determinarse de acuerdo con el método de HPLC descrito en Munshi et al., J. Biol. Chem 275, 21566-21571 (2000). Los anticuerpos anti-CD38 de la invención pueden inhibir la actividad enzimática de CD38 en por lo menos aproximadamente un 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%.

45 Los anticuerpos anti-CD38 de la invención comprenden las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente.

50 Los anticuerpos anti-CD38 de la invención comprenden además las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de las SEQ ID NO: 9, 10 y 11, respectivamente.

65

En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 comprende la región variable de la cadena pesada (VH) de SEQ ID NO: 4 y la región variable de la cadena ligera (VL) de la SEQ ID NO: 5.

En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 comprende una cadena pesada de la SEQ ID NO: 12 y una cadena ligera de la SEQ ID NO: 13.

En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la de la SEQ ID NO: 12 y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la de la SEQ ID NO: 13.

En la invención pueden usarse anticuerpos que son sustancialmente idénticos al anticuerpo que comprende la cadena pesada de la SEQ ID NO: 12 y la cadena ligera de la SEQ ID NO: 13, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación. El término "sustancialmente idéntico" como se usa en la presente significa que las dos secuencias de aminoácidos de la cadena pesada o cadena ligera de anticuerpos que se comparan son idénticas o tienen "diferencias insustanciales". Las diferencias insustanciales son sustituciones de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 aminoácidos en una cadena pesada o ligera de anticuerpos que no afectan negativamente a las propiedades de los anticuerpos. El porcentaje de identidad puede determinarse, por ejemplo, mediante la alineación por parejas usando la configuración predeterminada del módulo AlignX de Vector NTI v.9.0.0 (Invitrogen, Carlsbad, CA). Las secuencias de proteínas de la presente invención pueden usarse como una secuencia de consulta para realizar una búsqueda en bases de datos públicas o de patentes para, por ejemplo, identificar secuencias relacionadas. Los programas ejemplares usados para realizar tales búsquedas son los programas XBLAST o BLASTP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), o la suite GenomeQuest™ (GenomeQuest, Westborough, MA) usando la configuración predeterminada. Las sustituciones ejemplares que pueden realizarse a los anticuerpos anti-CD38 usados en los métodos de la invención son, por ejemplo, sustituciones conservadoras con un aminoácido que tiene características de carga, hidrófobas o estereoquímicas similares. También pueden realizarse sustituciones conservadoras para mejorar las propiedades del anticuerpo, por ejemplo, estabilidad o afinidad, o para mejorar las funciones efectoras del anticuerpo. Pueden realizarse 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o 15 sustituciones de aminoácidos, por ejemplo, en la cadena pesada o ligera del anticuerpo anti-CD38. Además, cualquier residuo nativo en la cadena pesada o ligera también puede sustituirse con alanina, como se ha descrito anteriormente para la mutagénesis de exploración de alanina (MacLennan et al., *Acta Physiol Scand Suppl* 643:55-67, 1998; Sasaki et al., *Adv Biophys* 35:1-24, 1998). Las sustituciones de aminoácidos deseadas pueden determinarse por los expertos en la técnica en el momento en que se deseen tales sustituciones. Las sustituciones de aminoácidos pueden realizarse, por ejemplo, mediante mutagénesis por PCR (Patente de Estados Unidos N° 4.683.195). Pueden generarse bibliotecas de variantes usando métodos bien conocidos, por ejemplo, usando codones aleatorios (NNK) o no aleatorios, por ejemplo codones DVK, que codifican 11 aminoácidos (Ala, Cys, Asp, Glu, Gly, Lys, Asn, Arg, Ser, Tyr, Trp) y seleccionando las bibliotecas para las variantes con las propiedades deseadas. Las variantes generadas pueden probarse para determinar su unión a CD38, su capacidad para inducir ADCC, ADCP o apoptosis *in vitro* usando los métodos descritos en la presente.

En algunas realizaciones, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el anticuerpo anti-CD38 es un anticuerpo biespecífico. Las regiones VL y/o VH de los anticuerpos anti-CD38 existentes o las regiones VL y VH identificadas *de novo* como se ha descrito anteriormente pueden manipularse en anticuerpos de longitud completa biespecíficos. Tales anticuerpos biespecíficos pueden realizarse modulando las interacciones de CH3 entre las dos cadenas pesadas de anticuerpos monoespecíficos para formar anticuerpos biespecíficos usando tecnologías como las descritas en la Patente de Estados Unidos N° 7.695.936; Publicación de Patente Internacional N° WO04/111233; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2010/0015133; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2007/0287170; Publicación de Patente Internacional N° WO2008/119353; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2009/0182127; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2010/0286374; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2011/0123532; Publicación de Patente Internacional N° WO2011/131746; Publicación de Patente Internacional N° WO2011/143545; o Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2012/0149876. Las estructuras biespecíficas adicionales en las que pueden incorporarse las regiones VL y/o VH de los anticuerpos de la invención son, por ejemplo, inmunoglobulinas de dominio variable dual (Publicación de Patente Internacional N° WO2009/134776), o estructuras que incluyen varios dominios de dimerización para conectar los dos brazos de anticuerpos con diferente especificidad, como la cremallera de leucina o los dominios de dimerización de colágeno (Publicación de Patente Internacional N° WO2012/022811, Patente de Estados Unidos N° 5.932.448; Patente de Estados Unidos N° 6.833.441).

Otra realización de la invención es un anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es mieloma múltiple, leucemia linfoblástica aguda

(ALL), linfoma no de Hodgkin, linfoma de células B grandes difuso (DLBCL), linfoma de Burkitt (BL), linfoma folicular (FL) o linfoma de células del manto (MCL).

5 Un régimen terapéutico del anticuerpo anti-CD38 en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP) puede proporcionar una eficacia sinérgica en la muerte tumoral *in vivo* cuando se compara con el estándar de atención CHOP o R-CHOP, y por lo tanto puede proporcionar un beneficio en una población de pacientes en comparación con CHOP o R-CHOP usados solos.

10 La invención también proporciona un anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20.

15 La invención también proporciona un anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el sujeto ha interrumpido el tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20 debido a efectos secundarios.

20 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, ifosfamida, carboplatino o etopósido.

25 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP).

30 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ifosfamida, carboplatino y etopósido (ICE).

35 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20, en donde el anticuerpo anti-CD20 es rituximab (RITUXAN®), ofatumumab (ARZERRA®), veltuzumab, ocrelizumab, obinutuzumab (GA-101), PRO13192 u ocratuzumab (AME-133v).

40 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anti-CD20 anticuerpo, en donde el anticuerpo anti-CD20 es rituximab.

45 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), y el anticuerpo anti-CD 20 es rituximab (RITUXAN®), ofatumumab (ARZERRA®), veltuzumab, ocrelizumab, obinutuzumab (GA-101), PRO13192 u ocratuzumab (AME-133v).

50 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ifosfamida, carboplatino y etopósido (ICE), y el anticuerpo anti-CD 20 es rituximab (RITUXAN®), ofatumumab (ARZERRA®), veltuzumab, ocrelizumab, obinutuzumab (GA- 101), PRO13192 u ocratuzumab (AME-133v).

60 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP) y el anticuerpo anti-CD20 es rituximab.

65 En algunas realizaciones de la invención descritas en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-

CD20, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ifosfamida, carboplatino y etopósido (ICE), y el anticuerpo anti-CD20 es rituximab.

5 Pueden usarse varios métodos cualitativos y/o cuantitativos para determinar si un sujeto es resistente, ha desarrollado o es susceptible de desarrollar una resistencia al tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20. Los síntomas que pueden estar asociados con la resistencia incluyen, por ejemplo, una disminución o meseta del bienestar del paciente, un aumento en el tamaño de un tumor, un aumento en la cantidad de células cancerosas, una disminución detenida o ralentizada del crecimiento de un tumor o células tumorales, y/o la propagación de células cancerosas en el cuerpo desde una localización a otros órganos, tejidos o células. El restablecimiento o empeoramiento de varios síntomas asociados con el tumor también puede ser una indicación de que un sujeto ha desarrollado o es susceptible de desarrollar resistencia a por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20. Los síntomas asociados con el cáncer pueden variar según el tipo de cáncer. Por ejemplo, los síntomas asociados con neoplasias malignas de células B pueden incluir ganglios linfáticos inflamados en el cuello, la ingle o las axilas, fiebre, sudores nocturnos, tos, dolor en el pecho, pérdida de peso inexplicable, hinchazón o dolor abdominal, o una sensación de opresión. La remisión en los linfomas malignos se estandariza usando los criterios de Cheson (Cheson et al., *J Clin Oncology* 25:579-586, 2007), cuyas directrices pueden usarse para determinar si un sujeto ha desarrollado una resistencia a por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20.

10 Las secuencias de aminoácidos de la cadena pesada y ligera de los anticuerpos identificados por sus United States Adopted Names (USAN) están disponibles generalmente a través de la American Medical Association en http://_www_ama-assn_org o a través del registro CAS, o en International Nonproprietary Names (INN) en http://_www_drugs_com/inn_html.

15 En algunas realizaciones de la invención descrita en la presente, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, el sujeto que tiene una neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es homocigoto para fenilalanina en la posición 158 de CD16 (genotipo FcγRIIIa-158F/F) o heterocigoto para valina y fenilalanina en la posición 158 de CD16 (genotipo FcγRIIIa-158F/V). El CD16 también es conocido como el receptor Fc gamma IIIa (FcγRIIIa) o la isoforma del receptor III-A de la región Fc de inmunoglobulina gamma de baja afinidad. Se ha demostrado que el polimorfismo de valina/fenilalanina (V/F) en la posición 158 del residuo de proteína FcγRIIIa afecta la afinidad de FcγRIIIa con la IgG humana. El receptor con polimorfismos FcγRIIIa-158F/F o FcγRIIIa-158F/V demuestra un acoplamiento de Fc reducido y, por lo tanto, una ADCC reducida en comparación con FcγRIIIa-158V/V. La falta de o una baja cantidad de fucosa en oligosacáridos N-ligados humanos mejora la capacidad de los anticuerpos para inducir la ADCC debido a la unión mejorada de los anticuerpos con FcγRIIIa humana (CD16) (Shields et al., *J Biol Chem* 277:26733-40, 2002). Los pacientes pueden ser analizados por su polimorfismo FcγRIIIa usando métodos rutinarios.

20 La invención también proporciona un anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sujeto es homocigoto para fenilalanina en la posición 158 de CD16 o heterocigoto para valina y fenilalanina en la posición 158 de CD16.

Administración/Composiciones Farmacéuticas

25 En algunas realizaciones de la invención, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, los anticuerpos anti-CD38 pueden proporcionarse en composiciones farmacéuticas adecuadas que comprenden el anticuerpo anti-CD38 y un portador farmacéuticamente aceptable. El portador puede ser un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el anticuerpo anti-CD38. Tales vehículos pueden ser líquidos, como agua y aceites, incluidos los de petróleo, de origen animal, vegetal o sintético, como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Por ejemplo, puede usarse un 0,4% de solución salina y un 0,3% de glicina. Estas soluciones son estériles y generalmente están libres de material particulado. Pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales bien conocidas (por ejemplo, Filtración). Las composiciones pueden contener sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables según se requiera para aproximarse a las condiciones fisiológicas como agentes de ajuste del pH y tamponamiento, agentes estabilizantes, espesantes, lubricantes y colorantes. La concentración de las moléculas o anticuerpos de la invención en tal formulación farmacéutica puede variar ampliamente, es decir, de menos de aproximadamente el 0,5%, habitualmente hasta por lo menos aproximadamente el 1% hasta tanto como el 15 o 20% en peso y se seleccionará principalmente en base a la dosis requerida, volúmenes de fluido, viscosidades, etc., de acuerdo con el modo particular de administración seleccionado. Los vehículos y formulaciones adecuados, incluyendo otras proteínas humanas, por ejemplo, albúmina de suero humano, se describen, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª Edición, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams y Wilkins, Filadelfia, PA 2006, Parte 5, Fabricación Farmacéutica, págs. 691-1092, ver especialmente págs. 958-989.

30 El modo de administración de los anticuerpos anti-CD38 de la invención puede ser cualquier vía adecuada como administración parenteral, por ejemplo, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa o subcutánea,

pulmonar, transmucosal (oral, intranasal, intravaginal, rectal) u otros medios apreciado por los expertos en la técnica, como es bien conocido en la técnica.

5 El anticuerpo anti-CD38 de la invención, y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, puede administrarse a un paciente por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por vía parenteral mediante infusión intravenosa (*i.v.*) o inyección de bolo, intramuscularmente o subcutáneamente o intraperitonealmente. La infusión *i.v.* puede administrarse durante, por ejemplo, 15, 30, 60, 90, 120, 180 o 240 minutos, o de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 horas

10 La dosis administrada a un paciente que tiene una neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es suficiente para aliviar o por lo menos detener parcialmente la enfermedad que se está tratando ("cantidad terapéuticamente eficaz") y puede ser a veces de 0,005 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg, por ejemplo, de aproximadamente 0,05 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg o de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 25 mg/kg, o de aproximadamente 4 mg/kg, de aproximadamente 8 mg/kg, de aproximadamente 16 mg/kg o de aproximadamente 24 mg/kg, o, por ejemplo, de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg, pero puede ser incluso mayor, por ejemplo, de aproximadamente 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 mg/kg.

20 También se puede administrar una dosis unitaria fija, por ejemplo, 50, 100, 200, 500 o 1000 mg, o la dosis puede basarse en el área de superficie del paciente, por ejemplo, 500, 400, 300, 250, 200 o 100 mg/m². Habitualmente, pueden administrarse entre 1 y 8 dosis (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8) para tratar una neoplasia maligna de células B positiva para CD38, pero pueden administrarse 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más dosis.

25 La administración del anticuerpo anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, puede repetirse después de un día, dos días, tres días, cuatro días, cinco días, seis días, una semana, dos semanas, tres semanas, un mes, cinco semanas, seis semanas, siete semanas, dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses o más. También son posibles los cursos de tratamiento repetidos, como es la administración crónica. La administración repetida puede ser a la misma dosis o a una dosis diferente. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CD38 de la invención puede administrarse a 8 mg/kg o a 16 mg/kg a intervalos semanales durante 8 semanas, seguido de la administración a 8 mg/kg o a 16 mg/kg cada dos semanas durante 16 semanas adicionales, seguido de la administración a 8 mg/kg o a 16 mg/kg cada cuatro semanas por infusión intravenosa.

35 Los anticuerpos anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, pueden administrarse mediante terapia de mantenimiento como, por ejemplo, una vez a la semana durante un período de 6 meses o más.

40 Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, pueden proporcionarse como una dosis diaria en una cantidad de aproximadamente 0,1-100 mg/kg, como 0,5, 0,9, 1,0, 1,1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 mg/kg, por día, por lo menos uno de los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40, o alternativamente, por lo menos uno de la semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 después del inicio del tratamiento, o cualquier combinación de los mismos, usando dosis individuales o divididas de cada 24, 12, 8, 6, 4 o 2 horas, o cualquier combinación de los mismos.

50 Los anticuerpos anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, también pueden administrarse profilácticamente para reducir el riesgo de desarrollar cáncer, retrasar la aparición de un evento en la progresión del cáncer y/o reducir el riesgo de recurrencia cuando un cáncer está en remisión. Esto puede ser especialmente útil en pacientes en los que es difícil localizar un tumor que se sabe que está presente debido a otros factores biológicos.

55 El anticuerpo anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, puede liofilizarse para almacenamiento y reconstituirse en un portador adecuado antes de su uso. Esta técnica ha demostrado ser eficaz con preparaciones de proteínas convencionales y pueden emplearse técnicas de liofilización y reconstitución bien conocidas.

60 El anticuerpo anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, se administra en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP).

65 Por ejemplo, el CHOP y los constituyentes individuales del mismo, pueden administrarse como se describe, en Moharhmad et al., Gun. Cancer Res 25:4950, 2000; McKelvey et al, Cancer 1484-1493; 1976; Armitage et al, J.

Clin. Oncol 2:898-902, 1984; Skeel, R.T., Handbook of Cancer Gliemotherapy, 3ª Edición, Little, Brown & Co., 1991: 343. Las vías típicas de administración son intraperitoneal (i.p.), intravenosa (i.v.) u oral (p.o.). Los regímenes pueden ser diarios, cada dos días o cada cuatro días. Las dosis típicas de los componentes de CHOP son las siguientes: ciclofosfamida, dosis individual de hasta 30 mg/kg *i.v.* o *i.p.*, o 20 mg/kg al día durante ocho días *i.v.* o *ip*; doxorubicina, dosis individual de hasta 6 mg/kg *i.v.* o *i.p.*; vincristina, dosis individual de 0,2 a 0,5 mg/kg *i.p.* o *i.v.*; prednisona, hasta 10 mg/kg/día como agente individual, *p.o.*

Por ejemplo, el CHOP puede administrarse a dosificaciones: ciclofosfamida 30 mg/kg, doxorubicina 2,5 mg/kg, vincristina 0,4 mg/kg, prednisona 0,15 mg/kg. El CHOP puede administrarse cada 21 días para diferentes números de ciclos. La ciclofosfamida, la doxorubicina y la vincristina pueden administrarse como infusión *i. v.* La prednisona puede administrarse en forma de comprimidos, tomados diariamente por vía oral durante cinco días al comienzo de cada ciclo.

Para los anticuerpos anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, la combinación del anticuerpo anti-CD38 y CHOP puede administrarse durante cualquier periodo de tiempo conveniente. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CD38 y CHOP pueden administrarse a un paciente el mismo día, e incluso en la misma infusión intravenosa, excepto la prednisona. Sin embargo, el anticuerpo anti-CD38 y CHOP también pueden administrarse en días alternos o semanas o meses alternos, y así sucesivamente. En algunos métodos, el anticuerpo anti-CD38 y el CHOP pueden administrarse con suficiente proximidad en el tiempo para que estén presentes simultáneamente (por ejemplo, en el suero) a niveles detectables en el paciente que se está tratando. En algunos métodos, un curso completo de tratamiento con el anticuerpo anti-CD38 que consiste de un número de dosis durante un periodo de tiempo es seguido o precedido por un curso de tratamiento con CHOP, que consiste de un número de dosis. Puede usarse un período de recuperación de 1, 2 o varios días o semanas entre la administración del anticuerpo anti-CD38 y el CHOP.

El anticuerpo anti-CD38 de la invención y en todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, se administra en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP).

El anticuerpo anti-CD38 de la invención y en algunas realizaciones de todas y cada una de las realizaciones numeradas que se enumeran a continuación, puede administrarse en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona y un anticuerpo anti-CD20 rituximab (R-CHOP).

El rituximab puede administrarse como una infusión intravenosa a una dosis de 375 mg/m² y puede administrarse una vez por semana para 4 u 8 dosis.

La combinación de anticuerpo anti-CD38 y CHOP puede administrarse junto con cualquier forma de radioterapia, incluyendo radiación de haz externo, radioterapia de intensidad modulada (IMRT) y cualquier forma de radiocirugía, incluyendo Gamma Knife, Cyberknife, Linac y radiación intersticial (por ejemplo, semillas radiactivas implantadas, globo GliaSite), y/o con cirugía. La radioterapia puede usarse en pacientes con enfermedad voluminosa (tamaño tumoral superior a unos 10 cm) o en un entorno paliativo para pacientes que no son candidatos para la quimioterapia.

Aunque se ha descrito la invención en términos generales, se divulgarán adicionalmente las realizaciones de la invención en los siguientes ejemplos que no deben interpretarse como limitativos del alcance de las reivindicaciones.

Realizaciones adicionales de la invención

A continuación se exponen ciertas realizaciones adicionales de la invención de acuerdo con las divulgaciones de otra parte del presente documento. Las características de las realizaciones de la invención expuestas anteriormente descritas en relación con la invención divulgada en la presente también se refieren a todas y cada una de estas realizaciones numeradas adicionales.

1. Un anticuerpo anti-CD38 para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene una neoplasia maligna hematológica positiva para CD38, en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), en donde el anticuerpo anti-CD38:

(i) induce la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis o modulación *in vitro* de la actividad enzimática de CD38;

(ii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente; y

(iii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de las SEQ ID NO: 9, 10 y 11, respectivamente.

2. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la realización 1, en donde el anticuerpo anti-CD38:
- 5 (i) es del isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4;
(ii) tiene una estructura de glucano biantenarico con un contenido de fucosa de aproximadamente el 50%, 40%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11 % 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0%;
(iii) comprende una sustitución en el anticuerpo Fc en la posición de aminoácido 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 o 430, cuando la numeración de residuos es de acuerdo con el índice de la EU; y/o
10 (iv) se une a CD38 con una afinidad de 1×10^{-9} o menos, 1×10^{-10} o menos, 1×10^{-11} o menos, o 1×10^{-12} o menos.
3. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la realización 1 o 2, en donde el anticuerpo anti-CD38 comprende:
- 15 (i) comprende la región variable de la cadena pesada (VH) de la SEQ ID NO: 4 y la región variable de la cadena ligera (VL) de la SEQ ID NO: 5;
(ii) comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la de la SEQ ID NO: 12 y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la de la SEQ ID NO: 13; o
20 (iii) comprende la cadena pesada de la SEQ ID NO: 12 y la cadena ligera de la SEQ ID NO: 13.
4. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1-3, en donde la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es mieloma múltiple, leucemia linfoblástica aguda (ALL), linfoma no de Hodgkin, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt (BL), linfoma folicular (FL) o linfoma de células del manto (MCL), específicamente en donde la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es DLBCL.
- 25 5. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1-4, en donde:
- 30 (i) el sujeto es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20; y/o
(ii) el sujeto ha interrumpido el tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20 debido a efectos secundarios.
- 35 6. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la realización 5, en donde el anticuerpo anti-CD20 es rituximab (RITUXAN®), ofatumumab (ARZERRA®), veltuzumab, ocrelizumab, obinutuzumab (GA-101), PRO13192 u ocratumumab (AME- 133v), específicamente en donde el anticuerpo anti-CD20 es rituximab.
- 40 7. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con la realización 5 o 6, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, ifosfamida, carboplatino o etopósido, opcionalmente en donde:
- 45 (i) el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP); o
(ii) el por lo menos un agente quimioterapéutico es una combinación de ifosfamida, carboplatino y etopósido (ICE).
- 50 8. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1-7, en donde el anticuerpo anti-CD38, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona se administran simultáneamente, secuencialmente o por separado.
- 55 9. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1-8, en donde el sujeto se trata adicionalmente con radioterapia.
10. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1-9, en donde:
- 60 (i) el anticuerpo anti-CD38 comprende la región variable de la cadena pesada (VH) de la SEQ ID NO: 4 y la región variable de la cadena ligera (VL) de la SEQ ID NO: 5;
(ii) el anticuerpo anti-CD38 es IgG1; y
(iii) en donde la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es DLBCL.
- 65 11. El anticuerpo anti-CD38 para su uso de acuerdo con cualquiera de las realizaciones 1 a 9, en donde:

- (i) el anticuerpo anti-CD38 comprende la región variable de la cadena pesada (VH) de la SEQ ID NO: 4 y la región variable de la cadena ligera (VL) de la SEQ ID NO: 5;
- (ii) el anticuerpo anti-CD38 es IgG1; y
- (iii) en donde la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es el linfoma de Burkitt.

Ejemplo 1 Terapia de combinación con daratumumab y CHOP en modelos de linfoma no de Hodgkin (NHL) derivados de pacientes

Métodos

El ST1361 es un modelo de PDX (xenoinjerto derivado del paciente) de NHL-DLBCL (linfoma difuso de células B grandes) originario de un no tratado con quimio hispano de cincuenta y ocho años de edad antes de la recogida de muestras metastásicas. El paciente había sido tratado con 8 ciclos de R-CHOP antes de la resección, con tratamientos posteriores con R-ICE y R-GEMOX.

Se implantaron tumores en ratones inmunocomprometidos entre las 5-8 semanas de edad. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 125-250 mm³ (día 0) los animales se asignaron al azar a grupos de tratamiento y control y la dosificación se inició el día 0. El daratumumab se dosificó a 20 mg/kg una vez a la semana durante 3 semanas. El CHOP y R-CHOP se dosificaron a las concentraciones descritas a continuación una vez el día 0. CHOP (ciclofosfoamida: 30 mg/kg; doxorubicina: 2,5 mg/kg; vincristina: 0.4 mg/kg) -IV DÍA 0; prednisona: 0,15 mg/kg DÍAS 0-4; R-CHOP: rituximab 20 mg/kg-IP DÍA 0. Comenzando el día 0, el volumen tumoral se midió dos veces a la semana mediante un calibrador digital y se registraron datos que incluían volúmenes tumorales estimados individuales y medios (TV media ± SEM) para cada grupo. El estudio se usó para medir la inhibición del crecimiento tumoral hasta que se terminó el grupo de control y luego se continuó como un estudio de supervivencia para evaluar la duración de la eficacia de daratumumab.

Para el estudio, comenzando el día 0, se midieron las dimensiones del tumor dos veces a la semana mediante un calibrador digital y se registraron los datos que incluían los volúmenes tumorales estimados individuales y medios (TV ± SEM) para cada grupo. El volumen tumoral (TV) se calculó usando la fórmula: TV = ancho² x largo x 0,52. Los valores del % de inhibición del crecimiento tumoral (% de TGI) se calcularon para cada grupo de tratamiento (T) frente al control (C) usando mediciones iniciales (i) y finales (f) del tumor mediante la fórmula: % de TGI = 1-T_f-T_i/C_f-C.

Resultados

El daratumumab en combinación con CHOP o R-CHOP fue altamente eficaz en este modelo tumoral derivado de pacientes de DLBCL. El día 31, el régimen de CHOP por sí solo desaceleró el crecimiento tumoral en aproximadamente un 27%, mientras que el daratumumab inhibió el crecimiento tumoral en ~71%. El R-CHOP fue una terapia más eficaz con un 82% de inhibición del crecimiento tumoral. La combinación de daratumumab con CHOP o R-CHOP mostró regresión tumoral y al final del estudio ninguno de los animales tenía tumores medibles. Más allá del día 31, el 100% de los animales en

Tabla 1.

Tratamiento	Volumen tumoral medio (mm ³) ± SEM	% de TGI
Control de isotipo	2192± 160	
Daratumumab	744±236	71%
CHOP	1634± 159	27%
R-CHOP	513±104	82%
Daratumumab/ CHOP	0	107%
Daratumumab/ R-CHOP	0	107%
%de TGI: porcentaje de inhibición tumoral media		

daratumumab + CHOP y daratumumab + R-CHOP sobrevivieron, los otros grupos mostraron pérdida de animales debido a la progresión tumoral. La Figura 1A muestra el volumen tumoral a lo largo del tiempo para cada grupo de tratamiento, y la Figura 1B muestra el porcentaje de supervivencia mediano a lo largo del tiempo. La Tabla 1 muestra el % de TGI hasta el día 31 del estudio. En el día cero, el volumen tumoral para cada grupo fue de 145-146 mm³. La combinación de daratumumab y CHOP dio como resultado un TGI del 100% incluso después de 60 días desde el inicio del estudio.

En este estudio, se evaluó la eficacia de daratumumab en un modelo de DLBCL derivado de un paciente. Este paciente se trató con R-CHOP y respondió a R-CHOP inicialmente, pero posteriormente falleció debido a la progresión de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue determinar si la adición de daratumumab ofrecería un mayor beneficio para pacientes con DLBCL. En comparación con la monoterapia (daratumumab, CHOP o R-CHOP), la adición de daratumumab a CHOP o R-CHOP dio como resultado una regresión tumoral en todos los animales, mientras que los animales en todos los otros grupos sucumbieron a la muerte como resultado de la carga de la enfermedad. La combinación de daratumumab con CHOP o R-CHOP mostró un efecto mayor que aditivo sobre la inhibición del crecimiento tumoral.

Ejemplo 2. Eficacia del daratumumab en combinación con CHOP en el linfoma de Burkitt

Como modelo para el linfoma de Burkitt, se utilizaron células NAMALWA para estudiar la eficacia del daratumumab solo o en combinación con CHOP.

Métodos

Se mantuvieron células Namalwa *in vitro* en medio RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal (10% v/v), y L-glutamina (2 mM) a 37° C en una atmósfera de 5% de CO₂ en aire. Las células se subcultivaron rutinariamente dos veces por semana mediante tratamiento con tripsina-EDTA. Las células que crecieron en una fase de crecimiento exponencial se recogieron y se contaron para la inoculación del tumor. A los ratones se les inyectaron 2 x 10⁵ células Namalwa en 0,1 ml de PBS con matrigel (1:1) por vía subcutánea y los tratamientos se iniciaron cuando el tamaño tumoral medio alcanzó 189 mm³. La fecha de la inoculación de las células tumorales se indica como día 0. El objetivo principal fue ver si el crecimiento tumoral puede retrasarse o si los ratones portadores de tumores pueden curarse. Los tamaños de los tumores se midieron dos veces por semana y los valores del % de TGI se calcularon como se describe en el Ejemplo 1.

Resultados

Los animales se dividieron en cuatro grupos de tratamiento y se les administró vehículo (control de isotipo), daratumumab, CHOP o daratumumab en combinación con CHOP a las dosificaciones descritas en la Tabla 2.

Tabla 2.

Grupos	n	Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Vía de Dosificación	Programa	
1	10	Vehículo (IgG)	10	<i>i.p.</i>	QW33	
2	10	Daratumumab	10	<i>i.p.</i>	QW33	
3	10	CHOP	CTX	5	<i>i.v.</i>	QD35
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	
			Prednisona	0.03	<i>p.o.</i>	
4	10	Daratumumab		10	<i>i.p.</i>	QW33
		CHOP	CTX	5	<i>i.v.</i>	QD35
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	
			Prednisona	0.03	<i>p.o.</i>	

n, número de animales
i.p. inyección intraperitoneal
i.v. inyección intravenosa
p.o. administración oral
 QD: dosificación diaria
 QW: una vez a la semana
 CTX: ciclofosfamida

La Figura 2 muestra los resultados de la eficacia de daratumumab solo o en combinación con CHOP en el modelo NAMALWA de linfoma de Burkitt. La reducción en los tamaños tumorales (medido como el volumen tumoral) en diferentes grupos de tratamiento en diferentes puntos temporales después de la inoculación del tumor se muestra

en la Figura 2. El tamaño tumoral medio del grupo de vehículo (Grupo 1) alcanzó 4.281 mm³ en el día 26 después de la inoculación del tumor. El tratamiento con daratumumab a 10 mg/kg, CHOP y daratumumab a 10 mg/kg en combinación con CHOP produjo una actividad antitumoral significativa en el tamaño del tumor en el día 26 después de la inoculación del tumor por separado. Los tamaños tumorales medios fueron de 3.017 mm³ (valor T/C = 70,46%, valor de p<0,001), 3.304 mm³ (valor T/C = 77,17%, valor p=0,003) y 2.303 mm³ (valor T/C = 53,79%, valor de p<0,001) al mismo tiempo con un retraso en el crecimiento tumoral de 2,1 y 4 días, respectivamente, con un tamaño tumoral de 2.303 mm³.

Ejemplo 3. Eficacia del daratumumab en combinación con CHOP en el linfoma no de Hodgkin

Se utilizó el modelo de NHL-DLBCL basado en la línea celular SU-DHL-6 para estudiar la eficacia del daratumumab solo o en combinación con CHOP.

Métodos

Las células SU-DHL-6 se mantuvieron por separado *in vitro* en medio RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal al 20% (v/v) a 37° C en una atmósfera de 5% de CO₂ en aire. Las células se subcultivaron rutinariamente dos veces por semana. Las células que crecieron en una fase de crecimiento exponencial se recogieron y se contaron para la inoculación del tumor. Se irradiaron con γ ratones NOD SCID (200 rads) 24 h antes de la inyección. Cada ratón se inoculó por vía subcutánea en el costado derecho con células tumorales SU-DHL-6 (5 x 10⁶) en 0,1 ml de PBS con matrigel (1:1) para el desarrollo tumoral. Los tratamientos comenzaron cuando el tamaño del tumor alcanzó aproximadamente 154 mm³. La fecha de inoculación de las células tumorales se indica como día 0. Los tamaños de los tumores se midieron dos veces por semana y se calcularon los valores del % de TGI como se describe en el Ejemplo 1.

Los animales se dividieron en cuatro grupos de tratamiento y se les administró vehículo, daratumumab, CHOP o daratumumab en combinación con CHOP a las dosis descritas en la Tabla 3.

Los resultados de los tamaños tumorales en diferentes grupos en diferentes puntos temporales después de la inoculación del tumor se muestran en la Figura 3. El tamaño tumoral medio del grupo de vehículo (Grupo 1) alcanzó 4.281 mm³ en el día 32 después de la inoculación del tumor. El tratamiento con daratumumab a 10 mg/kg y daratumumab a 10 mg/kg en combinación con CHOP produjo una actividad antitumoral significativa en el tamaño tumoral en el día 32 después de la inoculación del tumor por separado. Los tamaños tumorales medios fueron 1.946 mm³ (valor T/C = 45,45%, valor de p = 0.006) y 1.611 mm³ (valor T/C = 37,62%, valor de p = 0,002) al mismo tiempo con un retraso del crecimiento tumoral de 3 y 3,5 días respectivamente con un tamaño tumoral de 1.500 mm³. El tratamiento con CHOP podría disminuir el tamaño tumoral en comparación con el grupo de vehículo, pero la disminución no alcanzó una diferencia significativa.

Tabla 3.

Grupo	n ^a	Tratamiento	Dosis (mg/kg)	Vía de dosificación ^b	Programa ^c	
1	10	Vehículo (IgG)	10	<i>i.p.</i>	QW34	
2	10	Daratumumab	10	<i>i.p.</i>	QW34	
3	10	CHOP	CTX	5	<i>i.v.</i>	QD35
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	
			Prednisona	0.03	<i>p.o.</i>	
4	10	Daratumumab		10	<i>i.p.</i>	QW34
		CHOP	CTX	5	<i>i.v.</i>	QD35
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	
			Prednisona	0.03	<i>p.o.</i>	

n, número de animales
i.p. inyección intraperitoneal
i.v. inyección intravenosa
p.o. administración oral
 QD: dosificación diaria
 QW: una vez a la semana
 CTX: ciclofosfamida

Ejemplo 4. La terapia secuencial o simultánea con daratumumab en combinación con CHOP o R-CHOP proporciona eficacia en modelos de linfoma no de Hodgkin (NHL) derivados del paciente

5 Se evaluó la eficacia del daratumumab solo o en combinación con CHOP o R-CHOP se evaluó usando dosificación simultánea o secuencial en el modelo de tumor DLBCL derivado de paciente ST1361 y de acuerdo con los métodos descritos en el Ejemplo 1.

10 Los animales se dividieron en grupos de tratamiento y se les dosificó como se muestra en la Tabla 4. El daratumumab y R-CHOP se dosificaron simultáneamente en el día 0 o en un intervalo de 7 días.

Tabla 4.

Grupo	n	Tratamiento		Dosis (mg/kg)	Vía de Dosificación	Programa
1	10	Vehículo (IgG)		10	<i>i.p.</i>	QWX3
2	10	Daratumumab		20	<i>i.p.</i>	QWX3
		CHOP	CTX	5	<i>i.v.</i>	D0
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	D0
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	D0
Prednisona	0.03		<i>p.o.</i>	D0-4		
3	10	Daratumumab		20	<i>i.p.</i>	QWX33
		R-CHOP	Rituximab	20	<i>i.p.</i>	QWX33
			CTX	5	<i>i.v.</i>	D0
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	D0
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	D0
Prednisona	0.03		<i>p.o.</i>	D0-4		
4	10	Daratumumab		20	<i>i.p.</i>	D7
		R-CHOP	Rituximab	20	<i>i.p.</i>	D0
			CTX	5	<i>i.v.</i>	D0
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	D0
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	D0
Prednisona	0.03		<i>p.o.</i>	D0-4		
5	10	Daratumumab	Daratumumab	20	<i>i.p.</i>	D0
		R-CHOP	Rituximab	20	<i>i.p.</i>	D7
			CTX	5	<i>i.v.</i>	D0
			Doxorrubicina	0.5	<i>i.v.</i>	D0
			Vincristina	0.08	<i>i.v.</i>	D0
Prednisona	0.03		<i>p.o.</i>	D0-4		

55 n, número de animales
i.p. inyección intraperitoneal
i.v. inyección intravenosa
p.o. administración oral
 QD: dosificación diaria
 QW: dosificación una vez a la semana
 D0 = dosificación día 0
 D0-4=dosificación una vez al día en los días d0-d4

60

Resultados

La Figura 4 muestra los resultados de las curvas de crecimiento tumoral en el tratamiento de respuesta hasta 45 días del estudio. Los tumores en el grupo de control del vehículo alcanzaron un volumen tumoral medio de 2134 mm³ el día 17. Los tumores en el grupo de daratumumab + CHOP revirtieron a un volumen tumoral medio de 96 mm³ el día 45. Los tumores en animales tratados con daratumumab y R-CHOP simultáneamente en el día 0 (grupo 4), revertieron completamente en el día 45. Los tumores en los animales tratados con R-CHOP el día 0, seguido de daratumumab el día 7 (grupo 5) mostraron un volumen tumoral medio de 998 mm³. Los tumores que fueron tratados con daratumumab el día 0, seguido de R-CHOP el día 7 (grupo 6) mostraron un volumen tumoral medio de 633 mm³. El estudio continuó hasta 101 días. Los animales tratados con daratumumab y R-CHOP simultáneamente en el día 0 (grupo 4), también revertieron completamente el día 101.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> Janssen Biotech, Inc.
Doshi, Parul
- <120> Terapias de combinación con anticuerpos anti-CD38
- 20 <130> JBI5043WOPCT
- <140> A ser asignado
- <141> 2015-02-24
- 25 <150> 61946002
- <151> 2014-02-28
- <150> 62006386
- <151> 2014-06-02
- 30 <160> 20
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 300
- 35 <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 1

40

45

50

55

60

65

ES 2 756 349 T3

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

ES 2 756 349 T3

Leu Glu Asp Thr Leu Leu Gly Tyr Leu Ala Asp Asp Leu Thr Trp Cys
 145 150 155 160

5
 Gly Glu Phe Asn Thr Ser Lys Ile Asn Tyr Gln Ser Cys Pro Asp Trp
 165 170 175

10
 Arg Lys Asp Cys Ser Asn Asn Pro Val Ser Val Phe Trp Lys Thr Val
 180 185 190

15
 Ser Arg Arg Phe Ala Glu Ala Ala Cys Asp Val Val His Val Met Leu
 195 200 205

20
 Asn Gly Ser Arg Ser Lys Ile Phe Asp Lys Asn Ser Thr Phe Gly Ser
 210 215 220

25
 Val Glu Val His Asn Leu Gln Pro Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala
 225 230 235 240

30
 Trp Val Ile His Gly Gly Arg Glu Asp Ser Arg Asp Leu Cys Gln Asp
 245 250 255

35
 Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg Pro Asp Lys Phe Leu Gln Cys Val
 275 280 285

40
 Lys Asn Pro Glu Asp Ser Ser Cys Thr Ser Glu Ile
 290 295 300

45
 <210> 2
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2

50
 Ser Lys Arg Asn Ile Gln Phe Ser Cys Lys Asn Ile Tyr Arg
 1 5 10

55
 <210> 3
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3

60
 Glu Lys Val Gln Thr Leu Glu Ala Trp Val Ile His Gly Gly
 1 5 10

65
 <210> 4
 <211> 122
 <212> PRT

ES 2 756 349 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 005 mAb VH

5

<400> 4

10 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

15 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
 20 25 30

20 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

25 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

30 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

35 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

40 Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110

45 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45

<220>

<223> 005 mAb VL

50

<400> 5

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

60 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

65 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

65

ES 2 756 349 T3

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

10 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

15 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 6
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> 005 mAb HCDR1

25 <400> 6

Ser Phe Ala Met Ser
 1 5

30 <210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> 005 mAb HCDR2

40 <400> 7

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

45 Gly

<210> 8
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> 005 mAb HCDR3

55 <400> 8

Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr
 1 5 10

60 <210> 9
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

65 <220>

ES 2 756 349 T3

<223> 005 mAb LCDR1

<400> 9

5 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 10

10 <211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> 005 mAb LCDR2

<400> 10

20 Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> 005 mAb LCDR3

30 <400> 11

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr Phe
1 5 10

35 <210> 12

<211> 452

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> 005 mAb cadena pesada

<400> 12

45 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

50 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
20 25 30

55 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

60

65

ES 2 756 349 T3

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

ES 2 756 349 T3

	290		295		300														
5	Tyr 305	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn			
						310					315					320			
10	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro			
					325					330					335				
15	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln			
				340					345					350					
20	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val			
			355					360					365						
25	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val			
	370						375					380							
30	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro			
	385					390				395						400			
35	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr			
				405						410					415				
40	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val			
			420						425					430					
45	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu			
		435					440						445						
50	Ser	Pro	Gly	Lys															
	450																		
55	<210>	13																	
	<211>	214																	
	<212>	PRT																	
	<213>	Secuencia artificial																	
60	<220>																		
	<223>	005 mAb cadena ligera																	
65	<400>	13																	
	Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly			
	1				5					10					15				
60	Glu	Arg	Ala	Thr	Leu	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Ser	Tyr			
				20					25					30					
65	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Leu	Leu	Ile			
			35					40					45						

ES 2 756 349 T3

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

10

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

15

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

20

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

25

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

30

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

35

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

40

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

45

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

50

<210> 14
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55

<220>
 <223> 003 mAb VH

60

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

65

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

ES 2 756 349 T3

Ala Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

5 Gly Arg Val Ile Pro Phe Leu Gly Ile Ala Asn Ser Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

10 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

15 Met Asp Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

20 Ala Arg Asp Asp Ile Ala Ala Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120

25 <210> 15
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> 003 mAb VL

<400> 15

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

40 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

45 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

50 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

55 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

60 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg
 85 90 95

65 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

65 <210> 16

ES 2 756 349 T3

<211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> 024 mAb VH

<400> 16

10 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15

15 Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

20 Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

25 Gly Ile Ile Tyr Pro His Asp Ser Asp Ala Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
 50 55 60

30 Gln Gly Gln Val Thr Phe Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

35 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

40 Ala Arg His Val Gly Trp Gly Ser Arg Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp
 100 105 110

45 Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 17
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> 024 mAb VL

<400> 17

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

60 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

65 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45

ES 2 756 349 T3

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

5 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

10 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro
 85 90 95

15 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 18
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20

<220>
 <223> MOR202 VH

25 <400> 18

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

30 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

35 Tyr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

40 Ser Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

45 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

50 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

55 Ala Arg Asp Leu Pro Leu Val Tyr Thr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

60 <210> 19
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

65 <220>

ES 2 756 349 T3

<223> MOR202 VL

<400> 19

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

10 Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val
 20 25 30

15 Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
 35 40 45

20 Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

25 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu
 65 70 75 80

30 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu
 85 90 95

35 Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
 100 105

<210> 20
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

40 Val Gln Leu Thr
 1

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un anticuerpo anti-CD38, para su uso en el tratamiento de un sujeto que tiene una neoplasia maligna hematológica positiva para CD38, en donde el anticuerpo anti-CD38 se administra en combinación con ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), en donde el anticuerpo anti-CD38:
- 10 i. induce la muerte *in vitro* de células que expresan CD38 por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), apoptosis, o modulación *in vitro* de la actividad enzimática de CD38;
 ii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena pesada (HCDR) 1 (HCDR1), 2 (HCDR2) y 3 (HCDR3) de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente; y
 iii) comprende las secuencias de las regiones determinantes de la complementariedad de la cadena ligera (LCDR) 1 (LCDR1), 2 (LCDR2) y 3 (LCDR3) de las SEQ ID NO: 9, 10 y 11, respectivamente.
- 15 **2.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo anti-CD38 induce la muerte de las células que expresan CD38 por ADCC o CDC *in vitro*.
- 20 **3.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CD38 es del isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, opcionalmente en donde el anticuerpo anti-CD38 (a) tiene una estructura de glucano biantenarico con un contenido de fucosa de aproximadamente el 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11% 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o 0%, o (b) comprende una sustitución en el Fc de anticuerpo en la posición de aminoácidos 256, 290, 298, 312, 356, 330, 333, 334, 360, 378 o 430, en donde la numeración de los residuos está de acuerdo con el índice de la EU.
- 25 **4.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CD38 comprende la región variable de la cadena pesada (VH) de la SEQ ID NO: 4 y la región variable de la cadena ligera (VL) de la SEQ ID NO: 5.
- 30 **5.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CD38 comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es idéntica en un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% a la de la SEQ ID NO: 12 y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es un 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a la de la SEQ ID NO: 13.
- 35 **6.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CD38 comprende la cadena pesada de la SEQ ID NO: 12 y la cadena ligera de la SEQ ID NO: 13.
- 40 **7.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es mieloma múltiple, leucemia linfoblástica aguda (ALL), linfoma no de Hodgkin (LNH), linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt (BL), linfoma folicular (FL) o linfoma de células del manto (MCL).
- 45 **8.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la neoplasia maligna hematológica positiva para CD38 es DLBCL.
- 50 **9.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el sujeto (a) es resistente o ha adquirido resistencia al tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20, o (b) ha interrumpido el tratamiento con por lo menos un agente quimioterapéutico o una combinación de por lo menos un agente quimioterapéutico y un anticuerpo anti-CD20 debido a los efectos secundarios.
- 55 **10.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el anticuerpo anti-CD20 es rituximab, ofatumumab, veltuzumab, ocrelizumab, obinutuzumab, PRO13192 u ocaratuzumab, por ejemplo en donde el anticuerpo anti-CD20 es rituximab.
- 60 **11.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, ifosfamida, carboplatino o etopósido, por ejemplo en donde el por lo menos un agente quimioterapéutico es (a) una combinación de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP), o (b) una combinación de ifosfamida, carboplatino y etopósido (ICE).
- 65 **12.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo anti-CD38, la ciclofosfamida, la doxorubicina, la vincristina y la prednisona se administran simultáneamente, secuencialmente o por separado.
- 13.** El anticuerpo para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el sujeto se trata adicionalmente con radioterapia.

Figura 1A.

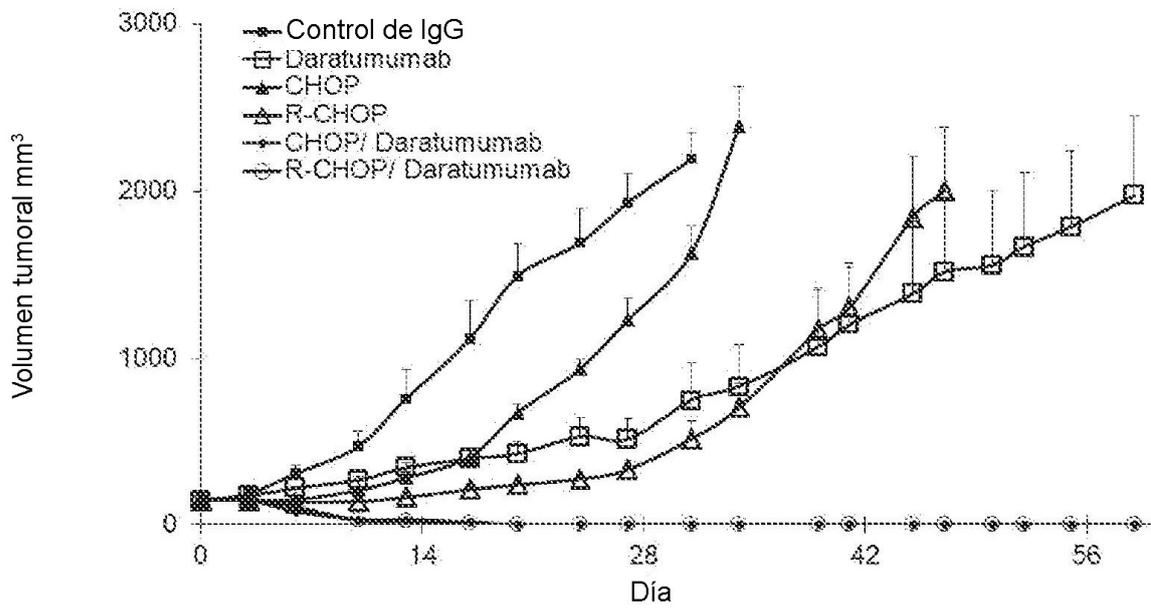


Figura 2.

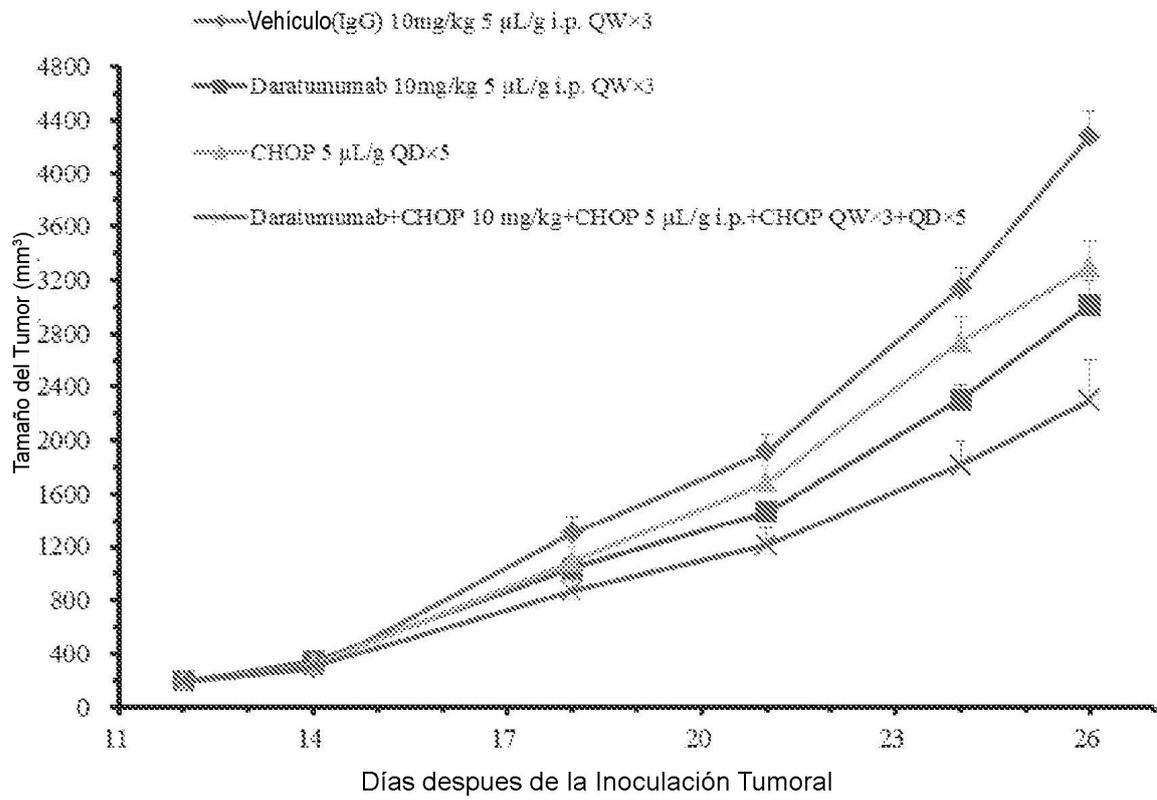


Figura 3.

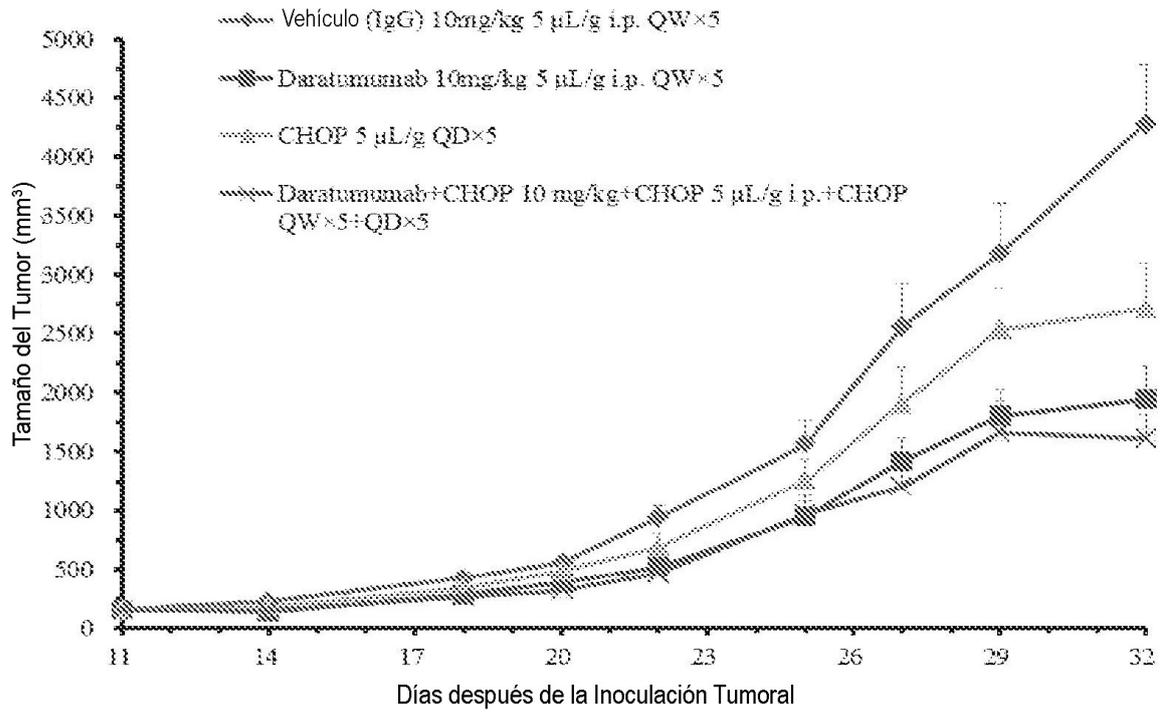


Figura 4.

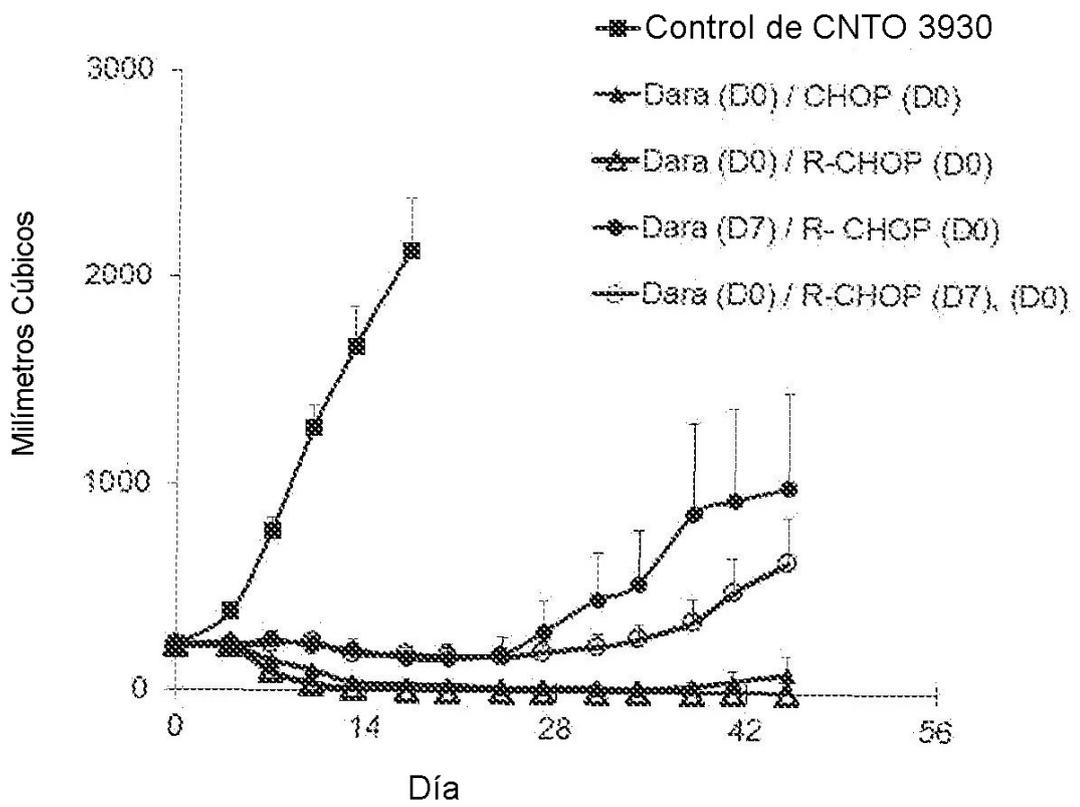


Figura 5.

