

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 778 902**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 39/395</b>	(2006.01)
<b>C07K 16/28</b>	(2006.01)
<b>A61K 39/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 45/06</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/56</b>	(2006.01)
<b>A61K 9/00</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.07.2014 PCT/US2014/046170**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.01.2015 WO15006571**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2014 E 14748342 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2020 EP 3019191**

54 Título: **Métodos de tratamiento de la esofagitis eosinofílica mediante la administración de un inhibidor de IL-4R**

30 Prioridad:

**11.07.2013 US 201361844978 P**

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

**12.08.2020**

73 Titular/es:

**REGENERON PHARMACEUTICALS, INC.  
(100.0%)  
777 Old Saw Mill River Road  
Tarrytown, NY 10591 , US**

72 Inventor/es:

**KOSTIC, ANA;  
KELLY, LUDMILA;  
LIU, XIA y  
CLASSON, BRENDAN J.**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 778 902 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Métodos de tratamiento de la esofagitis eosinofílica mediante la administración de un inhibidor de IL-4R

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del receptor de interleucina-4 para su uso en un método de tratamiento o mejora de al menos un síntoma o indicio de la esofagitis eosinofílica en un sujeto que lo necesite.

10

**Antecedentes**

La esofagitis eosinofílica (EoE) es una enfermedad emergente caracterizada por la disfunción esofágica y por la inflamación eosinofílica anormal del esófago. Los síntomas típicos de la EoE incluyen el rechazo de alimentos, vómitos, acidez estomacal, disfagia e impactación alimentaria que puede conducir a un deterioro de la calidad de vida. La EoE ha resultado estar asociada con la alergia alimentaria en muchos pacientes. Algunos pacientes también pueden tener asma concomitante o una enfermedad atópica tal como la dermatitis atópica o la rinitis alérgica. En la actualidad, la EoE se diagnostica mediante la endoscopia del esófago y la biopsia del tejido esofágico para verificar si hay eosinofilia. Las opciones de tratamiento actualmente se limitan a la retirada de los alérgenos, la modificación de la dieta y corticosteroides. Por consiguiente, existe una necesidad sin cubrir en la técnica de enfoques terapéuticos eficaces que no tengan efectos secundarios adversos que prevengan o traten la esofagitis eosinofílica y eviten la recaída. Se mencionan los siguientes documentos:

15

20

25

30

- Kostic *et al.*, (2010) *Clinical Immunology*, 135: S105-S106, que se refiere a un anticuerpo IL4-RA completamente humano para la inhibición de las respuestas Th2 dirigidas por IL-4/IL-13 en la enfermedad alérgica;
- Wenzel *et al.*, (2013) *New England Journal of Medicine*, 368 (26): 2455-2466, que se refiere a dupilumab en el asma persistente con niveles elevados de eosinófilos;
- Stone *et al.*, (2008) *Clinical & Experimental Allergy*, 38(12): 1858-1865, que se refiere a la terapia inmunomoduladora de enfermedades gastrointestinales asociadas con los eosinófilos; y
- Nguyen *et al.*, (2011) *Immunological Reviews*, 242(1): 258-271, que se refiere a la modulación inmunitaria para el tratamiento de enfermedades alérgicas;
- Otani *et al.*, (2013) *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131 (6): 1576-1582, que se refiere al uso del anticuerpo anti-IL-5 mepolizumab en el tratamiento de la esofagitis eosinofílica.

35 **Breve resumen de la invención**

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del receptor de interleucina-4 (IL-4R) para su uso en un método de tratamiento o mejora de al menos un síntoma o indicio de la esofagitis eosinofílica (EoE), comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición farmacéutica a un sujeto que lo necesita, en donde el inhibidor de IL-4R es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4Ra y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. En determinadas realizaciones, el sujeto que lo necesita presenta una reacción alérgica a un alérgeno alimentario o a un alérgeno no alimentario.

40

45

50

55

También se describen métodos de reducción del nivel de un biomarcador asociado a EoE en un sujeto. En determinados casos, el biomarcador asociado a la EoE se selecciona del grupo que consiste en, por ejemplo, eosinófilos circulantes o del esófago, eotaxina-3, periostina, IgE en suero (total y específica del alérgeno), IL-13, IL-5, timo en suero y quimiocina regulada por activación (TARC; *Activation Regulated Chemokin*; CCL17), linfopoyetina del estroma tímico (TSLP, *Thymic Stromal LymPhopoietin*), proteína catiónica eosinofílica (ECP, *Eosinophilic Cationic Protein*) en suero y neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN, *Eosinophil-Derived Neurotoxin*). Los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de IL-4R.

60

65

También se desvelan métodos de reducción de la infiltración eosinofílica del esófago en un sujeto que lo necesita. También se desvelan métodos de reducción de la inflamación en el esófago. Los métodos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de IL-4R. En determinados casos, la infiltración eosinofílica del esófago está representada por más de o igual a aproximadamente 15 eosinófilos por campo de alta potencia en el esófago del sujeto que lo necesita. En determinados casos, el número de eosinófilos se reduce en aproximadamente un 50 % en el día 10 tras la administración del inhibidor de IL-4R.

En determinadas realizaciones, el inhibidor de IL-4R se administra en combinación con un segundo agente terapéutico

o una segunda terapia.

En determinadas realizaciones, el sujeto que lo necesita tiene una enfermedad o un trastorno concurrente seleccionado del grupo que consiste en alergia alimentaria, dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica, conjuntivitis alérgica y trastornos hereditarios del tejido conjuntivo.

El inhibidor de IL-4R empleado en la invención es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4Ra y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. De acuerdo con determinadas realizaciones, el inhibidor de IL-4R es un anticuerpo o una proteína de unión al antígeno que se une a la cadena de IL-4Ra y bloquea la señalización de IL-4, IL-13 o tanto IL-4 como IL-13. Uno de esos tipos de proteína de unión al antígeno que se puede usar en el contexto de los métodos de la presente invención es un anticuerpo anti-IL-4Ra tal como dupilumab.

[Eliminado]

Otras realizaciones de la presente invención resultarán evidentes a partir de una revisión de la siguiente descripción detallada.

### Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra los niveles de IgE en suero en ratones inyectados con ADN de *Il25* usando el método de administración hidrodinámica de ADN (HDD, *Hydrodynamic DNA Delivery*) y posteriormente tratados con el control de isotipo, anticuerpo monoclonal anti-IL-4R de ratón o IL-13Ra2-Fc de ratón como se describe en el Ejemplo 1 del presente documento.

La **Figura 2** muestra las puntuaciones de histología esofágica de ratones inyectados con ADN de *Il25* usando el método HDD y posteriormente tratados con el control de isotipo, anticuerpo monoclonal anti-IL-4R de ratón o IL-13Ra2-Fc de ratón como se describe en el Ejemplo 1 del presente documento.

La **Figura 3** muestra las puntuaciones de histología esofágica (como se describe en otra parte del presente documento) de ratones sensibilizados con solución salina tamponada con fosfato (PBS, *Phosphate-Buffered Saline*) o con extracto de alérgenos del cacahuete (PAE, *Peanut Allergen Extract*) y expuestos a PBS o PAE. Los ratones se trataron con anticuerpo monoclonal anti-mIL-4R o un control de isotipo.

La **Figura 4** muestra los niveles en suero de (A) IgG1 específica de los alérgenos del cacahuete y (B) IgE en ratones sensibilizados con PBS o extracto de alérgenos del cacahuete (PAE) y expuestos a PBS o PAE. Los ratones se trataron con anticuerpo monoclonal anti-mIL-4R o un control de isotipo.

### Descripción detallada

Antes de describir la presente invención, debe entenderse que la presente invención no se limita a métodos ni condiciones experimentales particulares descritos, ya que dichos métodos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento únicamente tiene el fin de describir realizaciones particulares y no se pretende que sea limitante, ya que el alcance de la presente invención estará limitado únicamente por las reivindicaciones adjuntas.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. Como se emplea en el presente documento, el término "aproximadamente", cuando se usa en referencia a un valor numérico indicado particular, significa que el valor puede variar del valor indicado en no más de 1 %. Por ejemplo, como se usa en el presente documento, la expresión "aproximadamente 100" incluye 99 y 101, y todos los valores intermedios (por ejemplo, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, etc.).

Aunque se puede usar cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento en la práctica de la presente invención, ahora se describen los métodos y materiales preferidos.

### Métodos de tratamiento, Prevención o mejora de la esofagitis eosinofílica

La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del receptor de interleucina-4 (IL-4R) para su uso en un método de tratamiento o mejora de al menos un síntoma o indicio de la esofagitis eosinofílica (EoE), comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición farmacéutica a un sujeto que lo necesita, en donde el inhibidor de IL-4R es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4Ra y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1,

HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. Como se emplean en el presente documento, los términos "tratar", "tratando", o similares, significan aliviar los síntomas, eliminar la causa de los síntomas, ya sea de manera temporal o permanente, o prevenir o retrasar la aparición de los síntomas de inflamación eosinofílica en el esófago. En determinadas realizaciones, el al menos un síntoma o indicio de la EoE incluye, pero sin limitación, infiltración eosinofílica del esófago, engrosamiento de la pared esofágica, inflamación en el esófago, aparición de anillos o crestas de tipo traqueal en el esófago, dolor torácico y abdominal, rechazo de alimentos, vómitos, disfagia e impactación alimentaria.

"Esofagitis eosinofílica" (EoE), como se usa en el presente documento, significa una enfermedad inflamatoria caracterizada por la inflamación eosinofílica anormal dentro del esófago y por disfunción esofágica. Los síntomas principales de la EoE incluyen, pero sin limitación, dolor torácico y abdominal, disfagia, acidez estomacal, rechazo de alimentos, vómitos e impactación alimentaria. La clinicopatología de la EoE se caracteriza por la presencia de crestas o anillos de tipo traqueal en la pared esofágica y por la infiltración eosinofílica en la mucosa esofágica. La EoE se diagnostica actualmente mediante la endoscopia del esófago, seguida del análisis microscópico y bioquímico del revestimiento de la mucosa esofágica. La EoE puede clasificarse como alérgica o no alérgica según el estado del sujeto. La presente invención incluye la composición farmacéutica para su uso en métodos de tratamiento tanto de la forma alérgica como de la forma no alérgica de la EoE.

Como se emplea en el presente documento, la expresión "un sujeto que lo necesita" significa un mamífero humano o no humano que presenta uno o más síntomas o indicios de la esofagitis eosinofílica, y/o que ha sido diagnosticado con esofagitis eosinofílica (EoE). En determinadas realizaciones, los pacientes pueden ser aquellos que muestran niveles elevados de uno o más biomarcadores asociados con la EoE (descritos en otra parte del presente documento). Por ejemplo, los pacientes pueden ser aquellos con niveles elevados de IgE o eotaxina-3. La expresión "un sujeto que lo necesita" también puede incluir, por ejemplo, sujetos que, antes del tratamiento, presentan (o han presentado) uno o más indicios de la EoE tales como, por ejemplo, sobreexpresión esofágica de mediadores proinflamatorios tales como mastocitos, infiltración eosinofílica del esófago, engrosamiento de la pared esofágica, disfagia, impactación alimentaria, y dolor torácico y abdominal y/o un nivel elevado de un biomarcador asociado con la EoE. El término también incluye sujetos que muestran la presencia de  $\geq 15$  eosinófilos por campo de alta potencia en el esófago, y sujetos con recuentos elevados de eosinófilos periféricos ( $> 300$  células/ml) o IgE elevada en suero ( $> 150$  kU/l).

En determinadas realizaciones, los sujetos pueden ser aquellos que muestren la patología y los síntomas que se observan en sujetos con esofagitis crónica, incluyendo la enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE). En determinadas realizaciones, el término "un sujeto que lo necesita" incluye sujetos que no responden o que son resistentes a la terapia anti-ERGE. Por ejemplo, los sujetos pueden ser resistentes a los inhibidores de la bomba de protones (IBP).

En el contexto de la presente invención, "un sujeto que lo necesita" puede incluir un subconjunto de población que es más susceptible a la EoE o que puede mostrar un nivel elevado de un biomarcador asociado a la EoE. Por ejemplo, "un sujeto que lo necesita" puede incluir un sujeto que padezca una enfermedad o un trastorno atópico tal como alergia alimentaria, dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica y conjuntivitis alérgica. En determinadas realizaciones, la expresión "un sujeto que lo necesita" incluye un sujeto que, antes o en el momento de la administración del inhibidor de IL-4R, tiene o está diagnosticado de una enfermedad o un trastorno seleccionado del grupo que consiste en dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica y conjuntivitis alérgica. En determinadas realizaciones, la expresión "un sujeto que lo necesita" puede incluir pacientes con trastornos hereditarios del tejido conjuntivo. Dicha población de sujetos puede mostrar un nivel elevado de un biomarcador asociado a la EoE tal como, por ejemplo, por ejemplo, IgE, eotaxina-3, periostina, IL-5 o IL-13.

En determinadas realizaciones, "un sujeto que lo necesita" incluye un sujeto susceptible a un alérgeno. Por ejemplo, "un sujeto que lo necesita" incluye un sujeto que puede presentar una de las siguientes características: (a) es propenso a reacciones o respuestas alérgicas cuando se expone a uno o más alérgenos; (b) ha presentado previamente una respuesta o reacción alérgica a uno o más alérgenos; (c) tiene antecedentes conocidos de alergias; y/o (d) presenta un signo o síntoma de una respuesta alérgica o anafilaxia. En determinadas realizaciones, el sujeto es alérgico a un alérgeno asociado con la EoE o que le vuelve susceptible y/o propenso a desarrollar la EoE.

El término "alérgeno", como se usa en el presente documento, incluye cualquier sustancia, producto químico, partícula o composición que es capaz de estimular una respuesta alérgica en un individuo susceptible. Los alérgenos pueden estar contenidos o derivados de un alimento tal como, por ejemplo, por ejemplo, productos lácteos (por ejemplo, leche de vaca), huevo, trigo, soja, maíz, centeno, pescado, marisco, cacahuets y fruto seco arbóreo. Como alternativa, un alérgeno puede estar contenido en o derivado de un elemento no alimentario tal como, por ejemplo, polvo (por ejemplo, que contiene ácaros del polvo), polen, veneno de insecto (por ejemplo, veneno de abeja, avispa, mosquito, etc.), moho, caspa animal, látex, medicación, fármacos, ambrosía, hierba y abedul.

En determinadas realizaciones, la expresión "un sujeto que lo necesita" incluye un subconjunto de población que presenta una reacción alérgica a un alérgeno alimentario. Por ejemplo, "un sujeto que lo necesita" puede incluir un sujeto que tenga una alergia a un alérgeno contenido en un alimento que incluye, pero sin limitación, un producto lácteo, huevo, trigo, soja, maíz, centeno, pescado, marisco, cacahuete, un fruto seco arbóreo, ternera, pollo, avena, cebada, cerdo, judías verdes y frutas tales como la manzana y la piña.

En determinadas realizaciones, la expresión incluye un sujeto alérgico a un alérgeno no alimentario, tal como los alérgenos derivados del polvo, moho, insectos, plantas incluyendo el polen, y mascotas tales como gatos y perros. Los ejemplos de alérgenos no alimentarios (también conocidos como alérgenos ambientales o aeroalérgenos) incluyen, pero sin limitación, alérgenos de ácaros del polvo doméstico, alérgenos del polen, alérgenos de caspa animal, veneno de insectos, alérgenos de la hierba y látex.

Como se emplea en el presente documento, las expresiones "respuesta alérgica", "reacción alérgica", "síntoma alérgico", y similares, incluyen uno o más signos o síntomas seleccionados del grupo que consiste en urticaria (por ejemplo, ronchas), angioedema, rinitis, asma, vómitos, estornudos, secreción nasal, inflamación de los senos nasales, ojos llorosos, sibilancias, broncoespasmo, flujo espiratorio máximo (FEM) reducido, malestar gastrointestinal, enrojecimiento, labios hinchados, lengua hinchada, presión arterial reducida, anafilaxia y disfunción/fallo orgánico. Una "respuesta alérgica", "reacción alérgica", "síntoma alérgico", etc., también incluyen respuestas inmunitarias y reacciones tales como, por ejemplo, aumento de la producción de IgE, aumento de la producción de inmunoglobulinas específicas de los alérgenos y/o eosinofilia.

Los métodos del presente documento pueden usarse para tratar la EoE en niños que tengan  $\leq 3$  años. Por ejemplo, los presentes métodos se pueden usar para tratar a los lactantes que tengan menos de 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses o menos de 12 meses. En otras realizaciones, los métodos de la presente invención se pueden usar para tratar a niños mayores de 3 años, mayores de 4 años, 5 años, 6 años, 7 años, 8 años, 9 años, 10 años, 11 años, 12 años, 13 años, 14 años o mayores de 15 años.

La invención puede producir la reducción de la infiltración eosinofílica. La composición farmacéutica de la invención se puede usar en métodos que reducen o eliminan el número de eosinófilos, por ejemplo, en la mucosa esofágica.

Como se emplea en el presente documento, la "infiltración eosinofílica" se refiere a la presencia de eosinófilos en un órgano o tejido, incluyendo la sangre, el esófago, el estómago, el duodeno y el ileon de un sujeto. En el contexto de la invención, la expresión "infiltración eosinofílica" se refiere a la presencia de eosinófilos en el revestimiento mucoso de una región del tracto gastrointestinal que incluye, pero sin limitación, el esófago y el estómago. Se analiza la infiltración eosinofílica, por ejemplo, en una biopsia del tejido esofágico de un sujeto que padece EoE. De acuerdo con realizaciones particulares, la "infiltración eosinofílica" se refiere a la presencia de  $\geq 15$  eosinófilos por campo de alta potencia en el esófago. La expresión "campo de alta potencia" se refiere a un aumento total convencional de 400 veces con un microscopio usado para ver eosinófilos en un tejido, por ejemplo, del esófago de un sujeto. En determinadas realizaciones, la "infiltración eosinofílica" incluye la infiltración en un tejido por leucocitos, por ejemplo, linfocitos, neutrófilos y mastocitos. La infiltración de leucocitos en, por ejemplo, el tejido esofágico puede detectarse mediante marcadores de la superficie celular tales como marcadores específicos de los eosinófilos (por ejemplo, CD11c<sup>Bajo/Neg</sup>, SiglecF<sup>+</sup>, F4/80<sup>+</sup>, EMR1<sup>+</sup>, Siglec 8<sup>+</sup> y MBP2<sup>+</sup>), marcadores específicos de macrófagos (por ejemplo, CD11b<sup>+</sup>, F4/80<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>, EMR1<sup>+</sup>, y CD68<sup>+</sup>), marcadores específicos de neutrófilos (por ejemplo, CD11b<sup>+</sup>, Ly6G<sup>+</sup>, Ly6C<sup>+</sup>, Cd11b<sup>+</sup> y Cd66b<sup>+</sup>) y marcadores específicos de los linfocitos T (por ejemplo, CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>).

Como se emplea en el presente documento, una reducción en los eosinófilos del esófago significa que el número de eosinófilos y de otros leucocitos medidos en el esófago de un sujeto con EoE y que ha sido tratado con un inhibidor de IL-4R, es al menos un 5 %, 10 %, 20 %, 50 %, 70 %, 80 % o 90 % inferior al de los eosinófilos del esófago medidos en el mismo sujeto o en un sujeto equivalente que no ha sido tratado con el inhibidor de IL-4R. En determinadas realizaciones, la reducción de la infiltración eosinofílica significa la detección de menos de 15 eosinófilos por campo de alta potencia, más preferentemente, menos de 10 eosinófilos, menos de 9 eosinófilos, menos de 8 eosinófilos, menos de 7 eosinófilos, menos de 6 eosinófilos o menos de 5 eosinófilos por campo de alta potencia en una biopsia de la mucosa esofágica. En determinadas realizaciones, una reducción en los eosinófilos del esófago significa que no se detectan eosinófilos en la mucosa esofágica de un sujeto.

La presente invención incluye la composición farmacéutica de la invención para su uso en métodos de tratamiento, prevención o reducción de la gravedad de la esofagitis eosinofílica, que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de IL-4R a un sujeto que lo necesite, en donde la composición farmacéutica se administra al sujeto en múltiples dosis, por ejemplo, como parte de una pauta posológica terapéutica específica. Por ejemplo, la pauta posológica terapéutica puede comprender administrar múltiples dosis de la composición farmacéutica al sujeto con una frecuencia de aproximadamente una vez al día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez cada cuatro días, una vez cada cinco días, una vez cada seis días, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses o con menos frecuencia.

La composición farmacéutica de la presente invención se puede usar en métodos que, de acuerdo con determinadas realizaciones, comprenden administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de IL-4R en combinación con un segundo agente terapéutico. El segundo agente terapéutico puede ser un agente seleccionado del grupo que consiste en, por ejemplo, un inhibidor de IL-1 beta, un inhibidor de IL-5, un inhibidor de IL-9, un inhibidor de IL-13, un inhibidor de IL-17, un inhibidor de IL-25, un inhibidor de TNF alfa, un inhibidor de eotaxina-3, un inhibidor de IgE, un inhibidor de prostaglandina D2, un inmunosupresor, un corticoesteroide, un glucocorticoide, un inhibidor de la bomba de protones, un descongestionante, un antihistamínico y un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE). En determinadas realizaciones, el inhibidor de IL-4R de la invención se puede administrar en combinación con terapia que incluya la eliminación de alérgenos y el control de la dieta. Como se emplea en el presente documento, la expresión "en combinación con" significa que la composición farmacéutica que comprende un inhibidor de IL-4R se administra al sujeto al mismo tiempo que, justo antes o justo después de la administración del segundo agente terapéutico. En determinadas realizaciones, el segundo agente terapéutico se administra como una formulación conjunta con el inhibidor de IL-4R. En una realización relacionada, la presente invención incluye la composición farmacéutica de la invención para su uso en métodos que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica que comprende un inhibidor de IL-4R a un sujeto que está sometido a un régimen terapéutico antialérgico de fondo. El régimen terapéutico antialérgico de fondo puede comprender un ciclo de administración de, por ejemplo, esteroides, antihistamínicos, descongestionantes, agentes anti-IgE, etc. El inhibidor de IL-4R puede añadirse al régimen terapéutico antialérgico de fondo. En algunas realizaciones, el inhibidor de IL-4R se añade como parte de un esquema de "reducción gradual de fondo", en donde la terapia antialérgica de fondo se va retirando gradualmente del sujeto a lo largo del tiempo (por ejemplo, por etapas) mientras el inhibidor de IL-4R se administra al sujeto a una dosis constante, a una dosis creciente o a una dosis decreciente, a lo largo del tiempo.

#### 25 **Biomarcadores asociados a la esofagitis eosinofílica**

La presente invención también incluye la composición farmacéutica de la invención para su uso en métodos que implican el uso, la cuantificación y el análisis de biomarcadores asociados a la EoE. Como se emplea en el presente documento, la expresión "biomarcador asociado a la EoE" significa cualquier respuesta biológica, tipo de célula, parámetro, proteína, polipéptido, enzima, actividad enzimática, metabolito, ácido nucleico, carbohidrato u otra biomolécula presente o detectable en un paciente con EoE a un nivel o una cantidad diferente del (por ejemplo, superior o inferior al) nivel o cantidad del marcador presente o detectable en un paciente sin EoE. Los ejemplos de biomarcadores asociados con la EoE incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, eosinófilos del esófago, eotaxina-3 (CCL26), periostina, IgE en suero (total y específica del alérgeno), IL-13, IL-5, timo en suero y quimiocina regulada por activación (TARC; CCL17), linfopoyetina del estroma tímico (TSLP), proteína catiónica eosinofílica (ECP) en suero y neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN). La expresión "biomarcador asociado a la EoE" también incluye un gen o una sonda génica conocido en la técnica que se expresa diferencialmente en un sujeto con EoE en comparación con un sujeto sin EoE. Por ejemplo, los genes que están significativamente regulados positivamente en un sujeto con EoE incluyen, pero sin limitación, quimiocinas asociadas a linfocitos T auxiliares 2 (Th2) tales como CCL8, CCL23 y CCL26, periostina, cadherina de tipo 26 y proteína 6 inducida por TNF $\alpha$  (Blanchard *et al.*, 2006, *J. Clin. Invest.* 116: 536-547). Como alternativa, el "biomarcador asociado con la EoE" también incluye genes que están regulados negativamente debido a la EoE, tales como proteínas de diferenciación terminal (por ejemplo, filagrina) (Blanchard *et al.*, 2006, *J. Clin. Invest.* 116: 536-547). Uso de estos biomarcadores para controlar la reversión de la enfermedad con la administración del antagonista de IL-4R. Los métodos de detección y/o cuantificación de dichos biomarcadores asociados con la EoE son conocidos en la técnica; los kits para medir dichos biomarcadores asociados con la EoE están disponibles en distintas fuentes comerciales; y hay distintos laboratorios de diagnóstico comerciales que ofrecen servicios que también proporcionan mediciones de dichos biomarcadores.

También se describen métodos de tratamiento de la EoE que comprenden: (a) seleccionar un sujeto que presente un nivel de al menos un biomarcador asociado con la EoE antes o en el momento del tratamiento que signifique el estado patológico; y (b) administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprenda una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de IL-4R. En determinados casos, el sujeto se selecciona basándose en un nivel elevado de IgE o eotaxina-3.

También se desvelan métodos de tratamiento de la EoE que comprenden administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de IL-4R, en donde la administración de la composición farmacéutica al sujeto produce una disminución en al menos un biomarcador asociado con la EoE (por ejemplo, eosinófilos del esófago, eotaxina-3, IgE, etc.) en un momento posterior a la administración de la composición farmacéutica, en comparación con el nivel del biomarcador en el sujeto antes de la administración.

Como apreciará un experto en la materia, se puede determinar un aumento o una disminución de un biomarcador asociado con la EoE comparando (i) el nivel del biomarcador medido en un sujeto en un punto de tiempo definido tras la administración de la composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R con (ii) el nivel del biomarcador medido en el paciente antes de la administración de la composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R (es decir, la "medición de referencia"). El punto de tiempo definido en el que se mide el

biomarcador puede ser, por ejemplo, aproximadamente 4 horas, 8 horas, 12 horas, 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 15 días, 20 días, 35 días, 40 días, 50 días, 55 días, 60 días, 65 días, 70 días, 75 días, 80 días, 85 días o más días después de la administración de la composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R.

5 De acuerdo con determinadas realizaciones de la presente invención, un sujeto puede presentar una disminución del nivel de una o más de entre IgE y/o eotaxina-3 tras la administración de una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R (por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-4R). Por ejemplo, aproximadamente en el día 1, día 4, día 8, día 15, día 22, día 25, día 29, día 36, día 43, día 50, día 57, día 64, día 71 o día 85, después de la administración  
10 de una primera, segunda, tercera o cuarta dosis de una composición farmacéutica que comprende de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 600 mg de un anticuerpo anti-IL-4R (por ejemplo, dupilumab), el sujeto, de acuerdo con la presente invención, puede presentar una disminución de la eotaxina-3 de aproximadamente el 1 %, 2 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más con respecto a la línea de referencia (en donde "línea de referencia" se define como el nivel de eotaxina-3 en el sujeto justo antes de la primera administración). De manera similar, aproximadamente en el día 1, día 4, día 8, día 15, día 22, día 25, día 29, día 36, día 43, día 50, día 57, día 64, día 71 o día 85, después de la administración de una primera, segunda, tercera o cuarta dosis de una composición farmacéutica que comprende de aproximadamente 75 mg a aproximadamente 600 mg de un anticuerpo anti-IL-4R (por ejemplo, dupilumab), el sujeto, de acuerdo con la  
15 presente invención, puede presentar una disminución de la IgE de aproximadamente el 1 %, 2 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más con respecto a la línea de referencia (en donde "línea de referencia" se define como el nivel de IgE en el sujeto justo antes de la primera administración).

25 También se desvelan métodos de determinación si un sujeto es un sujeto adecuado para quien sería beneficiosa la administración de una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R. Por ejemplo, si un individuo, antes de recibir una composición farmacéutica que comprende un antagonista de IL-4R, presenta un nivel de un biomarcador asociado con la EoE que significa el estado patológico, por lo tanto, se identifica al individuo como un paciente adecuado para quien sería beneficiosa la administración de una composición farmacéutica de la invención (una composición que comprende un anticuerpo anti-IL-4R). En realizaciones relacionadas, un sujeto adecuado a quien se puede aplicar la invención puede ser más susceptible a la EoE, por ejemplo, debido a una alergia alimentaria o a una enfermedad atópica. Por ejemplo, la presente invención puede aplicarse a sujetos que tengan alergia alimentaria, dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica o conjuntivitis alérgica. En otro ejemplo, la presente invención puede aplicarse a sujetos que tengan, trastornos del tejido conjuntivo heredados mendelianos, por ejemplo, síndrome de Marfan, síndrome de Loey-Dietz, síndrome de Ehlers Danlos hiper móvil (SED) o síndrome de hiper movilidad  
30 articular (SHA). Dichas poblaciones de sujetos pueden tener un nivel elevado de un biomarcador asociado con la EoE.

De acuerdo con determinadas realizaciones ilustrativas, un individuo puede ser identificado como un buen candidato para la terapia anti-IL-4R si el individuo presenta uno o más de los siguientes: (i) un nivel de eotaxina-3 superior a aproximadamente 30 pg/ml, superior a aproximadamente 40 pg/ml, superior a aproximadamente 50 pg/ml, superior a aproximadamente 100 pg/ml, superior a aproximadamente 1500 pg/ml, superior a aproximadamente 200 pg/ml, superior a aproximadamente 250 pg/ml, superior a aproximadamente 300 pg/ml, superior a aproximadamente 350 pg/ml, superior a aproximadamente 400 pg/ml, superior a aproximadamente 450 pg/ml o superior a aproximadamente 500 pg/ml; o (ii) un nivel de IgE en suero superior a aproximadamente 114 kU/l, superior a aproximadamente 150 kU/l, superior a aproximadamente 500 kU/l, superior a aproximadamente 1.000 kU/l, superior a aproximadamente 1.500 kU/l, superior a aproximadamente 2.000 kU/l, superior a aproximadamente 2.500 kU/l, superior a aproximadamente 3.000 kU/l, superior a aproximadamente 3.500 kU/l, superior a aproximadamente 4.000 kU/l, superior a aproximadamente 4.500 kU/l o superior a aproximadamente 5.000 kU/l; o (iii)  $\geq 15$  eosinófilos por campo de alta potencia en el esófago del sujeto. Otros criterios adicionales, tales como otros indicadores clínicos de la EoE (por ejemplo, engrosamiento de la pared esofágica y alergia alimentaria indicativa de EoE), se pueden usar en combinación con cualquiera de los biomarcadores asociados con la EoE anteriores para identificar a un individuo como un candidato adecuado para la terapia anti-IL-4R como se describe en otra parte del presente documento.

#### Inhibidores del receptor de interleucina-4

55 La composición farmacéutica de la invención comprende un inhibidor del receptor de interleucina-4 (IL-4R) que es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4R $\alpha$  y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o de tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. Un receptor de IL-4 de tipo 1 es un receptor dimérico que comprende una cadena IL-4R $\alpha$  y una cadena  $\gamma$ c. Un receptor de IL-4 de tipo 2 es un receptor dimérico que comprende una cadena IL-4R $\alpha$  y una cadena IL-13R $\alpha$ 1. Los receptores de IL-4 de tipo 1 interactúan con y son estimulados por IL-4, mientras que los receptores de IL-4 de tipo 2 interactúan con y son estimulados tanto por IL-4 como por IL-13. Así  
60 pues, los inhibidores de IL-4R que se pueden usar en la presente invención pueden funcionar bloqueando la

señalización mediada por IL-4, la señalización mediada por IL-13 o la señalización mediada tanto por IL-4 como por IL-13. Los inhibidores de IL-4R de la presente invención pueden, por tanto, evitar la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de tipo 1 o tipo 2.

- 5 Como se emplea en el presente documento, los inhibidores de IL-4R también incluyen proteínas de unión al antígeno que se unen específicamente a IL-4 y/o IL-13.

#### **Anticuerpos anti-IL-4R $\alpha$ y fragmentos de unión al antígeno de los mismos**

- 10 El inhibidor de IL-4R empleado en la presente invención es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4R $\alpha$  y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, incluye moléculas de inmunoglobulina que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro, así como multímeros de las mismas (por ejemplo, IgM). En un anticuerpo normal, cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o V<sub>H</sub>) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada comprende tres dominios, C<sub>H</sub>1, C<sub>H</sub>2 y C<sub>H</sub>3. Cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o V<sub>L</sub>) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera comprende un dominio (C<sub>L</sub>1). Las regiones V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas (FR). Cada V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. En diferentes realizaciones de la invención, las FR del anticuerpo anti-IL-4R (o parte de unión al antígeno del mismo) pueden ser idénticas a las secuencias de la línea germinal humana o pueden modificarse de manera natural o artificial.
- 30 Una secuencia consenso de aminoácidos se puede definir basándose en un análisis paralelo de dos o más CDR.

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, también incluye fragmentos de unión al antígeno de moléculas de anticuerpo completas. Las expresiones "parte de unión al antígeno" de un anticuerpo, "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo y similares, como se usa en el presente documento, incluyen cualquier polipéptido o glucoproteína de origen natural, obtenible enzimáticamente, sintético o modificado por ingeniería genética que se une específicamente a un antígeno para formar un complejo. Los fragmentos de unión al antígeno de un anticuerpo pueden obtenerse, por ejemplo, de moléculas de anticuerpo completas, usando cualquier técnica convencional adecuada tal como digestión proteolítica o técnicas de ingeniería genética recombinante que implican la manipulación y expresión de ADN que codifica dominios variables, y opcionalmente constantes, de anticuerpo. Dicho ADN se conoce y/o se puede adquirir fácilmente de, por ejemplo, fuentes comerciales, genotecas de ADN (incluyendo, por ejemplo, fagotecas de anticuerpos), o puede sintetizarse. El ADN puede secuenciarse y manipularse químicamente o usando técnicas de biología molecular, por ejemplo, para disponer uno o más dominios variables y/o constantes en una configuración adecuada, o para introducir codones, crear restos de cisteína, modificar, añadir o suprimir aminoácidos, etc.

45 Los ejemplos no limitantes de fragmentos de unión al antígeno incluyen: (i) fragmentos Fab; (ii) fragmentos F(ab')<sub>2</sub>; (iii) fragmentos Fd; (iv) fragmentos Fv; (v) moléculas Fv de cadena sencilla (scFv); (vi) fragmentos dAb; y (vii) unidades de reconocimiento mínimo que consisten en los restos de aminoácidos que imitan la región hipervariable de un anticuerpo (por ejemplo, una región determinante de complementariedad (CDR) aislada, tal como un péptido CDR3) o un péptido FR3-CDR3-FR4 restringido. Otras moléculas modificadas por ingeniería genética, tales como anticuerpos específicos de dominio, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos de dominio suprimido, anticuerpos quiméricos, anticuerpos injertados con CDR, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, nanocuerpos (por ejemplo, nanocuerpos monovalentes, nanocuerpos bivalentes, etc.), inmunofarmacéuticos modulares pequeños (IFMP) y dominios IgNAR variables de tiburón, también se abarcan dentro de la expresión "fragmento de unión al antígeno", como se usa en el presente documento.

Un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo normalmente comprenderá al menos un dominio variable. El dominio variable puede ser de cualquier tamaño o composición de aminoácidos y generalmente comprenderá al menos una CDR que está adyacente a o en fase con una o más secuencias marco. En fragmentos de unión al antígeno que tienen un dominio V<sub>H</sub> asociado con un dominio V<sub>L</sub>, los dominios V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> pueden situarse uno con respecto al otro en cualquier disposición adecuada. Por ejemplo, la región variable puede ser dimerica y contener los dímeros V<sub>H</sub>-V<sub>H</sub>, V<sub>H</sub>-V<sub>L</sub> o V<sub>L</sub>-V<sub>L</sub>. Como alternativa, el fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener un dominio V<sub>H</sub> o V<sub>L</sub> monomérico.

65 En determinadas realizaciones, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo puede contener al menos un dominio variable unido covalentemente con al menos un dominio constante. Las configuraciones ilustrativas, no

limitantes, de dominios variables y constantes que se pueden encontrar dentro de un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo de la presente invención incluyen: (i) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1; (ii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2; (iii) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>3; (iv) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2; (v) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (vi) V<sub>H</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (vii) V<sub>H</sub>-C<sub>L</sub>; (viii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1; (ix) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2; (x) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>3; (xi) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2; (xii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>1-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; (xiii) V<sub>L</sub>-C<sub>H</sub>2-C<sub>H</sub>3; y (xiv) V<sub>L</sub>-C<sub>L</sub>. En cualquier configuración de dominios variables y constantes, incluyendo cualquiera de las configuraciones ilustrativas enumeradas anteriormente, los dominios variables y constantes pueden estar unidos directamente entre sí o pueden estar unidos mediante una región bisagra o conectora completa o parcial. Una región bisagra puede consistir en al menos 2 (por ejemplo, 5, 10, 15, 20, 40, 60 o más) aminoácidos que dan como resultado una unión flexible o semiflexible entre dominios variables y/o constantes adyacentes en una única molécula polipeptídica. Por otra parte, un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención puede comprender un homodímero o heterodímero (u otro multímero) de cualquiera de las configuraciones de dominio variable y constante enumeradas anteriormente en asociación no covalente entre sí y/o con uno o más dominios V<sub>H</sub> o V<sub>L</sub> monoméricos (por ejemplo, mediante enlace o enlaces disulfuro).

El término "anticuerpo", como se usa en el presente documento, también incluye anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos). Un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo multiespecífico normalmente comprenderá al menos dos dominios variables diferentes, en donde cada dominio variable puede unirse específicamente con un antígeno distinto o con un epítipo diferente en el mismo antígeno. Cualquier formato de anticuerpo multiespecífico puede adaptarse para su uso en el contexto de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo de la presente invención usando técnicas habituales disponibles en la técnica. Por ejemplo, la presente invención incluye métodos que comprenden el uso de anticuerpos biespecíficos en donde una rama de una inmunoglobulina es específica para IL-4R $\alpha$  o un fragmento del mismo, y la otra rama de la inmunoglobulina es específica para una segunda diana terapéutica o está conjugada con una fracción terapéutica. Los formatos biespecíficos ilustrativos que pueden usarse en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, por ejemplo, formatos biespecíficos basados en scFv o de diacuerpo, fusiones IgG-scFv, dominio variable doble (DVD)-Ig, cuadroma, botón en ojal, cadena ligera habitual (por ejemplo, cadena ligera habitual con botón en ojal, etc.), Cross-Mab, CrossFab, (SEED) cuerpo, cremallera de leucina, duocuerpo, IgG1/IgG2, Fab de acción doble (DAF, *dual acting Fab*)-IgG y formatos biespecíficos de Mab<sup>2</sup> (véase, por ejemplo, Klein *et al.*, 2012, "mAbs" 4:6, 1-11, y las referencias citadas en el mismo, para una revisión de los formatos anteriores). También se pueden construir anticuerpos biespecíficos usando conjugación de péptido/ácido nucleico, por ejemplo, en donde se usan aminoácidos no naturales con reactividad química ortogonal para generar conjugados de anticuerpo-oligonucleótido específicos de sitio que después se autoensamblan en complejos multiméricos con composición, valencia y geometría definidas. (Véase, por ejemplo, Kazane *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* [Epub: 4 de diciembre de 2012]).

Los anticuerpos usados pueden ser anticuerpos humanos. La expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, pretende incluir anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir, no obstante, restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*), por ejemplo, en las CDR y en particular CDR3. Sin embargo, la expresión "anticuerpo humano", como se usa en el presente documento, no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como de un ratón, se han injertado en secuencias marco humanas.

Los anticuerpos usados pueden ser anticuerpos humanos recombinantes. La expresión "anticuerpo humano recombinante", como se usa en el presente documento, pretende incluir todos los anticuerpos humanos que se han preparado, expresados, crean o aíslan por medios recombinantes, tales como anticuerpos expresados usando un vector de expresión recombinante introducido por transfección en una célula hospedadora (descrito en más detalle posteriormente), anticuerpos aislados de un banco combinatorio, recombinante, de anticuerpos humanos (descrito más adelante), anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para los genes de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, Taylor *et al.* (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295) o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados por cualquier otro medio que implique el corte y empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana en otras secuencias de ADN. Dichos anticuerpos humanos recombinantes tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. En determinadas realizaciones, sin embargo, dichos anticuerpos humanos recombinantes se someten a mutagénesis *in vitro* (o, cuando se usa un animal transgénico para secuencias de Ig humana, mutagénesis somática *in vivo*) y, por tanto, las secuencias de aminoácidos de las regiones V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> de los anticuerpos recombinantes son secuencias que, aunque proceden de, y están relacionadas con, secuencias de V<sub>H</sub> y V<sub>L</sub> de línea germinal humana, no pueden existir de forma natural dentro del repertorio de la línea germinal de anticuerpos humanos *in vivo*.

De acuerdo con determinadas realizaciones, los anticuerpos usados específicamente se unen a IL-4R $\alpha$ . La expresión "se une específicamente", o similares, significa que un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo forma un complejo con un antígeno que es relativamente estable en condiciones fisiológicas. Se conocen bien en la técnica métodos para determinar si un anticuerpo se une específicamente con un antígeno e incluyen, por ejemplo, diálisis en equilibrio, resonancia de plasmón superficial y similares. Por ejemplo, un anticuerpo que "se une específicamente" a IL-4R $\alpha$ , como se usa en el contexto de la presente invención, incluye anticuerpos que se unen a IL-4R $\alpha$  o parte del mismo con una K<sub>D</sub> de menos de aproximadamente 500 nM, menos de aproximadamente 300 nM, menos de aproximadamente 200 nM, menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 90 nM, menos de

- aproximadamente 80 nM, menos de aproximadamente 70 nM, menos de aproximadamente 60 nM, menos de aproximadamente 50 nM, menos de aproximadamente 40 nM, menos de aproximadamente 30 nM, menos de aproximadamente 20 nM, menos de aproximadamente 10 nM, menos de aproximadamente 5 nM, menos de aproximadamente 4 nM, menos de aproximadamente 3 nM, menos de aproximadamente 2 nM, menos de aproximadamente 1 nM o menos de aproximadamente 0,5 nM, medida en un ensayo de resonancia de plasmón superficial. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a IL-4R $\alpha$  humano puede, sin embargo, tener reactividad cruzada con otros antígenos, tales como moléculas de IL-4R $\alpha$  de otras especies (no humanas).
- De acuerdo con ciertas realizaciones ilustrativas de la presente invención, el inhibidor de IL-4R es un anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$ , o un fragmento de unión al antígeno del mismo, anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4R $\alpha$  y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende las regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada (HCDR) de una región variable de cadena pesada (HCVR) que comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. En otras realizaciones más, el anticuerpo anti-IL-4R o el fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una HCVR que comprende la SEQ ID NO: 1 y una LCVR que comprende la SEQ ID NO: 2. En determinadas realizaciones, la presente invención comprende el uso de un anticuerpo anti-IL-4R, en donde el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-IL-4R comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14. Un anticuerpo ilustrativo que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 es el anticuerpo anti-IL-4R completamente humano conocido como dupilumab. De acuerdo con determinadas realizaciones ilustrativas, la presente invención comprende el uso de dupilumab, o un bioequivalente del mismo. El término "bioequivalente", como se usa en el presente documento, se refiere a anticuerpos anti-IL-4R o a proteínas de unión a IL-4R o a fragmentos de los mismos que son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuya velocidad y/o grado de absorción no muestran una diferencia significativa con los de dupilumab cuando se administran a la misma dosis molar en condiciones experimentales similares, bien en una sola dosis o en múltiples dosis. En el contexto de la invención, el término se refiere a proteínas de unión al antígeno que se unen a IL-4R, que no tienen diferencias clínicamente significativas con dupilumab en cuanto a su seguridad, pureza y/o potencia.
- En determinadas realizaciones particulares, la presente invención comprende el uso de un anticuerpo anti-IL-4R anti-ratón o un fragmento de unión al antígeno del mismo que comprende una secuencia de HCVR de SEQ ID NO: 9 y una secuencia de LCVR de SEQ ID NO: 10. En una realización ilustrativa, la invención comprende un anticuerpo anti-IL-4R de ratón ("anti-mIL-4R $\alpha$ ") para su uso en un método de reducción de la infiltración eosinófilica del esófago en un modelo de ratón de esofagitis eosinófilica.
- Otros anticuerpos anti-IL-4R $\alpha$  que se pueden usar en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, el anticuerpo denominado y conocido en la técnica como AMG317 (Corren *et al.*, 2010, *Am J Respir Crit Care Med.*, 181 (8): 788-796), o cualquiera de los anticuerpos anti-IL-4R $\alpha$  como se establece en la patente de Estados Unidos n.º 7.186.809, patente de EE.UU. n.º 7.605.237, patente de EE.UU. n.º 7.608.693 o patente de EE.UU. n.º 8.092.804.
- Los anticuerpos anti-IL-4R $\alpha$  usados en el contexto de la presente invención pueden tener características de unión dependientes del pH. Por ejemplo, un anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$  para su uso en la presente invención puede presentar una unión reducida a IL-4R $\alpha$  a pH ácido en comparación con el pH neutro. Como alternativa, un anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$  de la invención puede presentar una unión mejorada a su antígeno a pH ácido en comparación con el pH neutro. La expresión "pH ácido" incluye valores de pH inferiores a aproximadamente 6,2, por ejemplo, aproximadamente 6,0, 5,95, 5,9, 5,85, 5,8, 5,75, 5,7, 5,65, 5,6, 5,55, 5,5, 5,45, 5,4, 5,35, 5,3, 5,25, 5,2, 5,15, 5,1, 5,05, 5,0 o inferiores. Como se emplea en el presente documento, la expresión "pH neutro" significa un pH de aproximadamente 7,0 a aproximadamente 7,4. La expresión "pH neutro" incluye valores de pH de aproximadamente 7,0, 7,05, 7,1, 7,15, 7,2, 7,25, 7,3, 7,35 y 7,4.
- En determinados casos, "unión reducida a IL-4R $\alpha$  a pH ácido en comparación con pH neutro" se expresa en términos de una proporción del valor de  $K_D$  del anticuerpo que se une a IL-4R $\alpha$  a pH ácido con respecto al valor de  $K_D$  del anticuerpo que se une a IL-4R $\alpha$  a pH neutro (o viceversa). Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo puede considerarse que presenta "unión reducida a IL-4R $\alpha$  a pH ácido en comparación con el pH neutro" para los fines de la presente invención si el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo presenta una proporción de  $K_D$  ácida/neutra de aproximadamente 3,0 o superior. En determinadas realizaciones ilustrativas, la proporción de  $K_D$  ácida/neutra para un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno de la presente invención puede ser de aproximadamente 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 20,0, 25,0, 30,0, 40,0, 50,0, 60,0, 70,0, 100,0 o superior.
- Se pueden obtener anticuerpos con características de unión dependientes del pH, por ejemplo, rastreando una población de anticuerpos para la unión reducida (o potenciada) a un determinado antígeno a pH ácido en comparación

con el pH neutro. Además, las modificaciones del dominio de unión al antígeno a nivel de aminoácidos pueden producir anticuerpos con características dependientes del pH. Por ejemplo, mediante la sustitución de uno o más aminoácidos de un dominio de unión al antígeno (por ejemplo, dentro de una CDR) con un resto de histidina, puede obtenerse un anticuerpo con unión al antígeno reducida a pH ácido en relación con el pH neutro. Como se emplea en el presente documento, la expresión "pH ácido" significa un pH de 6,0 o inferior.

### Composiciones farmacéuticas

La presente invención es una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del receptor de interleucina-4 (IL-4R) para su uso en un método de tratamiento o mejora de al menos un síntoma o indicio de la esofagitis eosinofílica (EoE), comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición farmacéutica a un sujeto que lo necesita, en donde el inhibidor de IL-4R es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4Ra y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8. Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden formular con vehículos, excipientes y otros agentes adecuados que proporcionen una transferencia, administración, tolerancia y similares adecuadas. Puede encontrarse una multitud de formulaciones apropiadas en el formulario conocido para todos los químicos farmacéuticos: "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, PA. Estas formulaciones incluyen, por ejemplo, polvos, pastas, pomadas, gelatinas, ceras, aceites, lípidos, vesículas que contienen lípidos (catiónicos o aniónicos) (tales como LIPOFECTIN™), conjugados de ADN, pastas de absorción anhidras, emulsiones de aceite en agua y agua en aceite, emulsiones de Carbowax (polietilenglicoles de diversos pesos moleculares), geles semisólidos y mezclas semisólidas que contienen Carbowax. Véase también Powell *et al.*, "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) *J Pharm Sci Technol* 52:238-311.

Se conocen diversos sistemas de administración y pueden usarse para administrar la composición farmacéutica de la invención, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, células recombinantes capaces de expresar los virus mutantes, endocitosis mediada por receptor (ver, por ejemplo, Wu *et al.*, 1987, *J. Biol. Chem.* 262: 4429-4432). Los métodos de administración incluyen, pero sin limitación, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural y otras vías. La composición puede administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo, por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.) y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos.

Una composición farmacéutica de la presente invención puede suministrarse por vía subcutánea o por vía intravenosa con una aguja y una jeringa convencionales. Además, con respecto a la administración subcutánea, un dispositivo inyector de pluma tiene fácilmente aplicaciones en la administración de una composición farmacéutica de la presente invención. Dicho dispositivo inyector de pluma puede ser reutilizable o desechable. Un dispositivo inyector de pluma reutilizable usa en general un cartucho reemplazable que contiene una composición farmacéutica. Una vez que se ha administrado toda la composición farmacéutica dentro del cartucho y que el cartucho está vacío, el cartucho vacío puede desecharse fácilmente y remplazarse con un nuevo cartucho que contiene la composición farmacéutica. El dispositivo inyector de pluma puede entonces reutilizarse. En un dispositivo inyector de pluma desechable, no hay cartucho reemplazable. Más bien, el dispositivo inyector de pluma desechable viene precargado con la composición farmacéutica mantenida en un depósito dentro del dispositivo. Una vez que el depósito se vacía de la composición farmacéutica, el dispositivo completo se desecha.

En determinadas situaciones, la composición farmacéutica puede suministrarse en un sistema de liberación controlada. En una realización, se puede usar una bomba. En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos; véase, "Medical Applications of Controlled Release", Langer y Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Ratón, Florida. En otra realización más, un sistema de liberación controlada puede ubicarse en las proximidades de la diana de la composición, requiriendo, por tanto, solo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, 1984, en "Medical Applications of Controlled Release", mencionado anteriormente, vol. 2, pág. 115-138). Se analizan otros sistemas de liberación controlada en la revisión de Langer, 1990, *Science* 249:1527-1533.

Las preparaciones inyectables pueden incluir formas farmacéuticas para la vía intravenosa, subcutánea, inyecciones intracutáneas e intramusculares, infusiones por goteo, etc. Estas preparaciones inyectables pueden prepararse por métodos conocidos. Por ejemplo, las preparaciones inyectables pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, suspendiendo o emulsionando el anticuerpo o su sal descrita anteriormente en un medio acuoso estéril o un medio oleoso usado convencionalmente para inyecciones. Como medio acuoso para inyecciones, existen, por ejemplo, solución salina fisiológica, una solución isotónica que contiene glucosa y otros coadyuvantes, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante apropiado tal como un alcohol (por ejemplo, etanol), un polialcohol (por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol), un tensioactivo no iónico [por ejemplo, polisorbato 80, HCO-50 (aducto de polioxietileno (50 mol) de aceite de ricino hidrogenado)], etc. Como el medio oleoso, se emplean, por ejemplo, aceite

de sésamo, aceite de soja, etc., que pueden usarse en combinación con un agente solubilizante tal como benzoato de bencilo, alcohol bencilico, etc. La inyección preparada de este modo se carga preferentemente en una ampolla apropiada.

- 5 Provechosamente, las composiciones farmacéuticas para su uso oral o parenteral descritas anteriormente se preparan en formas farmacéuticas en una dosis unitaria adecuada para ajustarse a una dosis de los principios activos. Dichas formas farmacéuticas en una dosis unitaria incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, inyecciones (ampollas), supositorios, etc.
- 10 Se desvelan composiciones farmacéuticas ilustrativas que comprenden un anticuerpo anti-IL-4R que se puede usar en el contexto de la presente invención, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos n.º 2012/0097565.

### Dosificación

- 15 La cantidad de inhibidor de IL-4R (por ejemplo, anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$ ) administrado a un sujeto, es, en general, una cantidad terapéuticamente eficaz. Como se emplea en el presente documento, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de inhibidor de IL-4R que produce uno o más de: (a) una reducción de la gravedad o duración de un síntoma de esofagitis eosinofílica; (b) una reducción del número de eosinófilos del
- 20 esófago; (c) la prevención o el alivio de una reacción alérgica; y (d) una reducción del uso o de la necesidad de terapia de alergia convencional (por ejemplo, uso reducido o eliminado de antihistamínicos, descongestionantes, esteroides nasales o inhalados, tratamiento anti-IgE, epinefrina, etc.).

- En el caso de un anticuerpo anti-IL-4R $\alpha$ , una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente
- 25 0,05 mg a aproximadamente 600 mg, por ejemplo, aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 1,0 mg, aproximadamente 1,5 mg, aproximadamente 2,0 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg,
- 30 aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg,
- 35 aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 510 mg, aproximadamente 520 mg, aproximadamente 530 mg,
- 40 aproximadamente 540 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 560 mg, aproximadamente 570 mg, aproximadamente 580 mg, aproximadamente 590 mg o aproximadamente 600 mg del anticuerpo anti-IL-4R. En determinadas realizaciones, se administran 300 mg de un anticuerpo anti-IL-4R.

- La cantidad de inhibidor de IL-4R contenida en las dosis individuales se puede expresar en miligramos de anticuerpo
- 45 por kilogramo de peso corporal del paciente (es decir, mg/kg). Por ejemplo, el inhibidor de IL-4R se puede administrar a un paciente a una dosis de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del paciente.

### Ejemplos

- 50 Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a los expertos en la materia una divulgación y descripción completa de cómo preparar y usar los métodos y las composiciones de la invención, y no se pretende que limiten el alcance de lo que los inventores consideran su invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben tenerse en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso
- 55 molecular es peso molecular promedio, la temperatura está en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana a la atmosférica.

#### **Ejemplo 1: El anticuerpo anti-IL-4R reduce la esofagitis eosinofílica en un modelo de ratón impulsado por la administración hidrodinámica de ADN (HDD) de IL-25**

- 60 En este ejemplo, se evaluó el efecto del bloqueo de IL-4R $\alpha$  sobre la esofagitis eosinofílica en un modelo de ratón de administración hidrodinámica de ADN (HDD) de //25. Este modelo se basa en la observación de que la expresión de IL-25 inducida provoca la señalización de IL-13 a través del receptor del heterodímero IL-4R $\alpha$ /IL-13R y, por consiguiente, produce eosinofilia del tracto gastrointestinal, incluyendo la infiltración eosinofílica del esófago y la
- 65 producción de moco.

El día 0, se inyectó a ratones Balb/c un plásmido con expresión de ADN de IL-25 de ratón ("pRG977/*mI25* de ratón", n = 17) o un vector vacío ("pRG977", n = 4), cada uno a 25 mg de ADN/ratón mediante el método de administración hidrodinámica de ADN (HDD) (véase, por ejemplo, Liu *et al.*, 1999, *Gene Therapy* 6:1258-1266). El plásmido se diluyó en PBS y se inyectó a un alto volumen (10 % del peso corporal [ml]), y a una alta velocidad de inyección (6-8 segundos por inyección) en la vena de la cola. Los ratones en los que se inyectó con ADN pRG977/ *mI25* se trataron mediante inyecciones subcutáneas (sc) de bien un anticuerpo anti-IL-4R de ratón ("anti-*mIL-4R $\alpha$* ") o control de isotipo o una proteína de fusión de la unidad alfa del receptor de IL-13 fusionada a la región Fc de ratón ("IL-13Ra2-Fc de ratón", usado como un receptor señuelo; Yasunaga *et al.*, 2003; "Cytokine" 24: 293-303) en los días 1, 3, 6 y 9 cada uno. Cada dosis fue de 50 mg/kg de peso corporal. El anticuerpo anti-*mIL-4R $\alpha$*  usado en este ejemplo fue un anticuerpo que comprendía una HCVR con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una LCVR con una secuencia de aminoácidos que comprendía SEQ ID NO: 10. La construcción de IL-13Ra2-Fc de ratón tenía la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. Los ratones fueron sacrificados el día 12 para el análisis esofágico y sanguíneo. Se extrajo sangre y se usó suero para detectar los niveles de IgE total mediante ELISA.

Se reparó el esófago extraído de cada ratón, se embebió en parafina y se tiñó con hematoxilina/eosina. Las secciones se puntuaron en cuanto a la patología, y el nivel de infiltración de los eosinófilos se puntuó de la siguiente manera:

Puntuación 0: sin cambios en el grosor de la pared del esófago, sin infiltrados de leucocitos;

Puntuación 1: infiltrados leucocitarios de bajos a moderados detectados en la capa submucosa;

Puntuación 2: infiltrados leucocitarios de moderados a graves en la submucosa, engrosamiento detectable de la pared del esófago;

Puntuación 3: infiltración leucocitaria grave que produce un notable engrosamiento de la pared del esófago.

Se evaluó la parte próxima, media y distal de cada esófago mediante una puntuación, siendo la puntuación final por animal la media de estos tres valores.

Los ratones inyectados con *I25* y tratados con anticuerpo de control de isotipo o proteína de fusión IL-13Ra2-Fc de ratón mostraron un mayor nivel de IgE en suero que se redujo significativamente en los ratones tratados con anticuerpo monoclonal anti-IL-4R $\alpha$  de ratón en comparación con el tratamiento con IL-13Ra2-Fc de ratón (véase la Figura 1). Los resultados de la puntuación histológica se ilustran en la Figura 2. Tanto el anticuerpo monoclonal anti-IL-4R $\alpha$  de ratón como IL-13Ra2-Fc de ratón redujeron la puntuación de patología del esófago en aproximadamente un 50 % (véase la Figura 2). Inicialmente, se usó la prueba t para calcular la significancia; sin embargo, para el análisis posterior, se usó ANOVA (o prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis).

### **Ejemplo 2: El anticuerpo anti-IL-4R reduce la infiltración eosinofílica del esófago en un modelo de ratón con alergia al cacahuete**

En este ejemplo, se evaluó el efecto del bloqueo de IL-4R $\alpha$  sobre la esofagitis eosinofílica inducida por alérgenos de cacahuete en un modelo de ratón.

Se sensibilizaron ratones Balb/c con 200 mg de extracto de alérgenos de cacahuete (PAE) en 1 mg de adyuvante de sales de aluminio (Alumbre) el día 0 y el día 14. Tres semanas después, el día 21, se expusieron los ratones por vía intranasal a 100 mg de PAE disuelto en 50 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS). La exposición se repitió los días 24, 27 y 30. Partiendo el día 21, un grupo de ratones expuestos no fue tratado y dos grupos recibieron por inyección anticuerpo anti-IL-4R ("mAb anti-*mIL-4R*" como se ha descrito anteriormente) a la dosis de 25 mg/kg, o el control de isotipo IgG1. El tratamiento se aplicó dos veces a la semana, partiendo el día 21. Los ratones fueron sacrificados 24 horas después de la última exposición con PEA el día 31, se extrajeron muestras de sangre y esófagos.

Se fijaron los esófagos en formalina tamponada, se embebieron en parafina y portaobjetos con secciones tisulares se tiñeron con H&E. Se calificó la extensión de los infiltrados leucocitarios y la inflamación con enmascaramiento, usando la siguiente puntuación: 0 = sin cambios en el grosor de la pared del esófago, sin infiltrados de leucocitos; 1 = infiltrados leucocitarios de bajos a moderados detectados en la submucosa; 2 = infiltrados leucocitarios de moderados a graves en la submucosa, engrosamiento detectable de la pared del esófago; 3 = infiltración leucocitaria grave que produce un notable engrosamiento de la pared del esófago. Cada 25 % de la longitud del esófago recibió una puntuación (4 puntuaciones por esófago); se calculó la media y se usó como "puntuación/ratón".

Para el recuento celular diferencial y la actividad, se digirió el tejido del esófago con la enzima Liberase DL durante 30 minutos a 37 °C (n = 5 por grupo). Tras la digestión con Liberase DL, se filtró la suspensión celular y las células se tiñeron con marcadores específicos de eosinófilos, linfocitos T, neutrófilos y macrófagos, y se analizaron mediante citometría de flujo. Se estimularon algunas de las células aisladas del esófago mediante digestión Liberase DL con anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 para activar los linfocitos T, y se cultivaron durante 3 días. Se analizaron los sobrenadantes del cultivo tisular mediante ELISA para determinar los niveles de citocinas Th2 (IL-13, IL-10 y IL-4).

La puntuación media para el grupo de ratones que no fue sensibilizado ni expuesto a los alérgenos del cacahuete fue de 0. Los ratones que fueron sensibilizados y expuestos, y no tratados, obtuvieron una puntuación de  $0,925 \pm 0,497$  (media  $\pm$  DT), los ratones sensibilizados y expuestos, y tratados con control de isotipo o con anticuerpo monoclonal

anti-mIL-4R obtuvieron  $0,975 \pm 0,615$  y  $0,725 \pm 0,652$ , respectivamente. Las diferencias entre los grupos tratados con el control de isotipo, tratados con el anticuerpo monoclonal anti-mIL-4R o no tratados no fueron estadísticamente significativas, de acuerdo con la prueba ANOVA unidireccional (que se muestra en la Figura 3).

5 También se extrajo sangre por punción cardíaca en la autopsia, y el suero se analizó para determinar los niveles de IgE total y los niveles de IgG1 específica del cacahuete (IgG1 específica de PAE) mediante ELISA. Brevemente, para la detección de IgG1 específica de PAE, se incubaron placas recubiertas con PAE con muestras de suero diluidas en serie, seguido de la incubación con anticuerpo conjugado anti-IgG1 de ratón-HRP. Los niveles relativos de los niveles de IgG1 en suero se representaron como unidades de título (se multiplicó la DO450 por un factor de dilución requerido para lograr una DO450  $\leq 0,5$ ). Para la detección de los niveles totales de IgE, se incubaron muestras de suero diluidas en serie con anticuerpo de captura anti-IgE en placas de 96 pocillos, y la IgE se detectó mediante anticuerpo secundario anti-IgE de ratón biotinilado. Se usó IgE de ratón purificada que estaba marcada con HRP como patrón.

15 Los niveles de IgG1 específica de PAE y de IgE total en sangre de ratones no sensibilizados ni expuestos fueron de  $439 \pm 17,25$  U y  $644 \pm 337,7$  ng/ml, respectivamente. En los ratones sensibilizados y expuestos a PAE sin tratamiento adicional, los niveles de IgG1 específica de PAE y de IgE total aumentaron a  $57.822 \pm 8.455$  U y  $2.857 \pm 1.149$  ng/ml, respectivamente. Los ratones tratados con control de isotipo mostraron  $61.304 \pm 17.293$  U de IgG1 específica de PAE y  $2.516 \pm 1.613$  ng/ml de IgE. El tratamiento con anticuerpo monoclonal anti-IL-4R $\alpha$  de ratón no afectó significativamente al nivel específico de PAE de IgG1 ( $48.128 \pm 22.691$  U), pero redujo significativamente el nivel en suero total de IgE ( $300 \pm 187,8$  ng/ml) en comparación con cualquiera de los ratones tratados con control de isotipo o ratones no tratados (mostrados en la Figura 4).

### 25 **Ejemplo 3: Ensayo clínico de dupilumab administrado por vía subcutánea en pacientes adultos con esofagitis eosinofílica (EoE)**

Este estudio es un estudio controlado con placebo, aleatorizado, con doble enmascaramiento, de 32 semanas de duración, para investigar la eficacia, seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad del dupilumab en pacientes adultos con EoE. El dupilumab es un anticuerpo anti-IL-4R completamente humano que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14; un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR que comprende SEQ ID NO: 1/2; y secuencias de CDR de cadena pesada y ligera que comprenden SEQ ID NO: 3-8.

35 El tratamiento del estudio se administra durante hasta 12 semanas con 16 semanas de seguimiento de seguridad. Después de dar su consentimiento informado, se evalúa la elegibilidad en la visita de selección realizada en las 4 semanas de la visita de referencia del día 1. Se recopilaron los datos del diario de síntomas del Instrumento de disfgia de Straumann (SDI, *Straumann Dysphagia Instrument*) (0-9) (período de recuerdo de 1 semana) y los datos del diario de síntomas del índice de actividad de la EoE (EoEAI, *EoE Activity Index*) (período de recuerdo de 1 semana) durante la visita de selección y semanalmente durante el estudio (Straumann *et al.*, 2010, *Gastroenterology* 139: 1526-1537). El cuestionario de calidad de vida para adultos con EoE se recoge en la visita de selección y al final de la visita de tratamiento. Los pacientes que cumplan con los criterios de elegibilidad se someterán a las evaluaciones iniciales del día 1. Los pacientes son distribuidos aleatoriamente en una proporción de 1:1 para recibir 300 mg de dupilumab subcutáneo o placebo una vez a la semana durante la etapa de doble enmascaramiento de 12 semanas.

45 En el estudio, se incluyen pacientes de 18 a 50 años con antecedentes de diagnóstico de EoE confirmados por una densidad celular máxima documentada de  $\geq 15$  eos/hpf (*high powered field*, campo de alta potencia) en muestras de biopsia de histología esofágica tanto a nivel proximal como distal, antecedentes de al menos 2 episodios de disfgia y antecedentes documentados de asma alérgica concomitante, rinitis alérgica, dermatitis atópica o alergias alimentarias; o recuentos periféricos elevados de eosinófilos ( $\geq 300$  células/ml) o IgE en suero elevada ( $\geq 150$  kU/l).

50 Los tratamientos farmacológicos del estudio incluyen una dosis de carga de 600 mg de dupilumab el día 1, seguida de una dosis semanal de 300 mg; o una dosis doble de placebo el día 1, seguida de una dosis semanal de placebo.

Los pacientes recibirán 2 inyecciones (incluyendo una dosis de carga) el día 1, seguidas de inyecciones semanales. Al final de la fase de tratamiento con doble enmascaramiento de 12 semanas, los pacientes reciben un seguimiento durante 16 semanas más. La población de estudio está estratificada por la respuesta previa al uso de corticosteroides tópicos ingeridos. La respuesta inadecuada se define como la incapacidad para normalizar los eosinófilos tisulares y para la resolución de los síntomas después de al menos 2 meses de tratamiento tópico. Las biopsias esofágicas se realizan en la selección y en la semana 12. Los pacientes que interrumpen el estudio antes de las 12 semanas finalizarán el procedimiento en su visita de interrupción temprana. Como parte del procedimiento, se incluye la medición de las características inflamatorias y de remodelación del esófago basadas en la puntuación de referencia endoscópica de la EoE.

65 Todos los pacientes reciben medicamentos concomitantes (excepto los medicamentos prohibidos) según sea necesario, mientras continúa el tratamiento del estudio. Si es necesario, se proporcionarán medicamentos de rescate (tales como corticosteroides sistémicos y tópicos) o dilatación esofágica de emergencia a los pacientes estudiados. Los pacientes que reciben terapia de rescate son suspendidos del tratamiento del estudio. Las mediciones de

seguridad, laboratorio y efecto clínico se realizan en visitas clínicas específicas. Las visitas de seguimiento posteriores al tratamiento se producen en las semanas 16, 20, 24 y 28. Se recogen muestras para el análisis del ADN y ARN de pacientes que se inscribieron en el subestudio genómico opcional. Se realizará la secuenciación del transcriptoma o el análisis de micromatriz del ARN de las biopsias esofágicas.

- 5 El objetivo principal del estudio es evaluar la posible eficacia de dosis subcutáneas repetidas semanalmente de dupilumab (12 semanas de tratamiento) en comparación con el placebo, para controlar la EoE en pacientes adultos con enfermedad activa. Los objetivos secundarios son: (a) evaluar la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de dosis subcutáneas repetidas de dupilumab en pacientes adultos con EoE activa; (b) evaluar el efecto del dupilumab en los recuentos máximos de eosinófilos (eos/hpf) en biopsias esofágicas; (c) evaluar la farmacocinética del dupilumab en pacientes adultos con EoE; (d) evaluar y optimizar el esquema de los criterios de valoración del registro de los criterios de valoración clínicos en desarrollo; y (e) evaluar el efecto farmacodinámico del dupilumab usando biomarcadores que incluyen marcadores de histología y marcadores circulantes (TARC y eotaxina-3).
- 10
- 15 Los pacientes son controlados para determinar: (a) el cambio porcentual en los resultados informados del paciente con índice de actividad de esofagitis eosinofílica (EoEAI) desde el inicio hasta la semana 12; (b) el cambio en la puntuación de SDI desde el inicio hasta la semana 12; y (c) la reducción de TARC en suero y de eotaxina-3 en plasma desde el inicio hasta la semana 12. Los otros criterios de valoración controlados incluyen la reducción de la hiperplasia esofágica, de la inflamación esofágica, del distintivo de genes inflamatorios y de la remodelación (histología), y la
- 20 reducción de los recuentos de eosinófilos de la mucosa esofágica por campo de alta potencia (x400).

LISTADO DE SECUENCIAS

- 25 <110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.
- <120> Métodos de tratamiento de la esofagitis eosinofílica mediante la administración de un inhibidor de IL-4R
- <130> 9110-WO
- 30 <150> 61/844978  
<151> 11/07/2013
- <160> 14
- 35 <170> FastSEQ para Windows versión 4.0
- <210> 1  
<211> 124  
<212> PRT
- 40 <213> Secuencia artificial
- <220>  
<223> HCVR
- 45 <400> 1

```

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

ES 2 778 902 T3

<210> 2  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> LCVR

<400> 2

10

```

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

<210> 3  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> HCDR1

20

<400> 3

```

Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr Ala
 1          5
    
```

25

<210> 4  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> HCDR2

<400> 4

```

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr
 1          5
    
```

35

<210> 5  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40

ES 2 778 902 T3

<220>  
<223> HCDR3

<400> 5

5

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

<210> 6  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10

<220>  
<223> LCDR1

15

<400> 6

Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ile Gly Tyr Asn Tyr  
1 5 10

<210> 7  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20

<220>  
<223> LCDR2

25

<400> 7

Leu Gly Ser  
1

30

<210> 8  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35

<220>  
<223> LCDR3

40

<400> 8

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr  
1 5

<210> 9  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

45

<220>  
<223> Anticuerpo sustituto con HCVR de ratón

50

<400> 9

ES 2 778 902 T3

```

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

```

- 5 <210> 10
- <211> 111
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
  
- <220>
- <223> Anticuerpo sustituto con LCVR de ratón
  
- 10 <400> 10

```

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

```

- 15 <210> 11
- <211> 207
- <212> PRT
- <213> Ser humano
  
- 20 <220>
- <223> IL-4Ralfa
  
- <400> 11

ES 2 778 902 T3

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

<210> 12

<211> 547

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> IL13Ra2 - mlgG2a aa 1-311: IL-13Ra2 de ratón (E23-S333) aa 312-314: enlazador aa315-547: Fc de IgG2a de ratón (E127 - K359)

<400> 12

ES 2 778 902 T3

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

ES 2 778 902 T3

```

Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val
      435                440                445
Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr
      450                455                460
Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu
465                470                475                480
Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
      485                490                495
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val
      500                505                510
Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val
      515                520                525
His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr
      530                535                540
Pro Gly Lys
545

```

<210> 13  
 <211> 451  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> HC aa 1-124: HCVR aa 125-451: HC constante

10

<400> 13

ES 2 778 902 T3

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 260 265 270  
 Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 275 280 285  
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr  
 290 295 300  
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
 305 310 315 320  
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser  
 325 330 335  
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
 340 345 350  
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 355 360 365  
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 370 375 380  
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 385 390 395 400  
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr  
 405 410 415  
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 420 425 430  
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 435 440 445  
 Ser Leu Gly  
 450

ES 2 778 902 T3

<210> 14  
 <211> 219  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> LC aa 1-112: LCVR aa 112-219: LC constante

<400> 14

10

```

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

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180     185     190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195     200     205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210     215
    
```

## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del receptor de interleucina-4 (IL-4R) para su uso en un método de tratamiento o mejora de al menos un síntoma o indicio de la esofagitis eosinofílica (EoE), comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición farmacéutica a un sujeto que lo necesita, en donde el inhibidor de IL-4R es un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a IL-4R $\alpha$  y evita la interacción de IL-4 y/o IL-13 con un receptor de IL-4 de tipo 1 o tipo 2, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende tres HCDR (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) y tres LCDR (LCDR1, LCDR2 y LCDR3), en donde la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8.
2. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 1, en donde el método comprende:  
seleccionar un sujeto que tenga una reacción alérgica a un alérgeno que le vuelva susceptible a la EoE; y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición farmacéutica al sujeto que lo necesita.
3. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 1 o 2, en donde:  
(a) el síntoma o indicio de la EoE se selecciona del grupo que consiste en infiltración eosinofílica del esófago, engrosamiento de la pared esofágica, rechazo de alimentos, vómitos, dolor abdominal, acidez estomacal, regurgitación, disfagia e impactación alimentaria;  
(b) el sujeto presenta una reacción alérgica a un alérgeno alimentario contenido en un alimento seleccionado del grupo que consiste en un producto lácteo, huevo, trigo, soja, maíz, pescado, marisco, cacahuete, un fruto seco arbóreo, ternera, pollo, avena, cebada, cerdo, judías verdes, manzana y piña, o el sujeto presenta una reacción alérgica a un alérgeno no alimentario derivado de uno de entre polvo, polen, moho, planta, gato, perro o insecto; y/o  
(c) la administración del inhibidor de IL-4R produce la reducción del nivel de un biomarcador asociado con la EoE en el sujeto, preferentemente, en donde el biomarcador asociado con la EoE se selecciona del grupo que consiste en eosinófilos esofágicos, eotaxina-3, periostina, IgE en suero (total y específica del alérgeno), IL-13, IL-5, timo en suero y quimiocina regulada por activación (TARC), linfopoyetina del estroma tímico (TSLP), proteína catiónica eosinofílica (ECP) en suero y neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN).
4. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 1, en donde el método comprende:  
seleccionar un sujeto que presenta al menos un síntoma o indicio de la EoE, en donde el sujeto tiene un nivel elevado de un biomarcador seleccionado del grupo que consiste en eosinófilos esofágicos, eotaxina-3, periostina, IgE en suero (total y específica del alérgeno), IL-13, IL-5, TARC, TSLP, ECP en suero y EDN; y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha composición farmacéutica al sujeto que lo necesita.
5. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 4, en donde el sujeto se selecciona en función de:  
(a) la presentación de  $\geq 15$  eosinófilos por campo de alta potencia (hpf) en el esófago antes o en el momento del tratamiento ("línea de referencia"), preferentemente, en donde el sujeto presenta al menos un 50 % de reducción del número de eosinófilos por hpf desde la línea de referencia en el día 10 después de la administración del inhibidor de IL-4R; o  
(b) la presentación de un nivel de eotaxina-3 superior a 50 pg/ml antes o en el momento del inicio del tratamiento ("línea de referencia"), preferentemente, en donde el sujeto presenta al menos un 50 % de reducción del nivel de eotaxina-3 desde la línea de referencia en el día 10 después de la administración.
6. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 4 o 5, en donde:  
(a) el sujeto presenta una reacción alérgica a un alérgeno alimentario contenido en un elemento alimentario seleccionado del grupo que consiste en un producto lácteo, huevo, trigo, soja, maíz, pescado, marisco, cacahuete, un fruto seco arbóreo, ternera, pollo, avena, cebada, cerdo, judías verdes, manzana y piña, o el sujeto presenta una reacción alérgica a un alérgeno no alimentario derivado de una fuente seleccionada del grupo que consiste en polvo, polen, moho, planta, gato, perro e insecto; y/o  
(b) el indicio se selecciona del grupo que consiste en infiltración eosinofílica del esófago, engrosamiento de la pared esofágica, rechazo de alimentos, vómitos, dolor abdominal, acidez estomacal, regurgitación, disfagia e impactación alimentaria.
7. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 1, en donde el sujeto tiene un nivel elevado de un biomarcador asociado con la esofagitis eosinofílica (EoE), en donde:

- (a) el biomarcador asociado con la EoE se selecciona del grupo que consiste en el número de eosinófilos del esófago, eotaxina-3, TARC, periostina, IgE, IL-5, IL-13, linfopoyetina del estroma tímico (TSLP) y neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN), preferentemente, en donde el sujeto presenta  $\geq 15$  eosinófilos por campo de alta potencia (hpf) en el esófago antes o en el momento del inicio del tratamiento ("línea de referencia"), más preferentemente, en donde el número de eosinófilos del esófago se reduce en al menos un 50 % desde la línea de referencia en el día 10 después de la administración del inhibidor de IL-4R;
- (b) el sujeto presenta una reacción alérgica a un alérgeno alimentario contenido en un elemento alimentario seleccionado del grupo que consiste en un producto lácteo, huevo, trigo, soja, maíz, pescado, marisco, cacahuete, un fruto seco arbóreo, ternera, pollo, avena, cebada, cerdo, judías verdes, manzana y piña;
- (c) el sujeto presenta una reacción alérgica a un alérgeno no alimentario derivado de una fuente seleccionada de uno de entre polvo, polen, moho, planta, gato, perro o insecto; y/o
- (d) el sujeto tiene esofagitis eosinofílica (EoE).
8. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el sujeto, antes o en el momento de la administración del inhibidor de IL-4R, tiene o está diagnosticado de una enfermedad o un trastorno seleccionado del grupo que consiste en dermatitis atópica, asma, rinitis alérgica y conjuntivitis alérgica.
9. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el inhibidor de IL-4R se administra en combinación con un segundo agente terapéutico o una segunda terapia, en donde el segundo agente terapéutico o la segunda terapia se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de IL-1 beta, un inhibidor de IL-5, un inhibidor de IL-9, un inhibidor de IL-13, un inhibidor de IL-17, un inhibidor de IL-25, un inhibidor de TNF alfa, un inhibidor de eotaxina-3, un inhibidor de IgE, un inhibidor de prostaglandina D2, un inmunosupresor, un corticoesteroide, un glucocorticoide, un inhibidor de la bomba de protones, un AINE, eliminación de alérgenos y el control de la dieta.
10. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la HCVR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y la LCVR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.
11. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.
12. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en donde el inhibidor de IL-4R es dupilumab.
13. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el método comprende administrar la composición farmacéutica por vía subcutánea.
14. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición farmacéutica está contenida en una jeringa.
15. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición farmacéutica está contenida en un dispositivo inyector de pluma.
16. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 15, en donde el dispositivo inyector de pluma es: (a) un dispositivo inyector de pluma reutilizable que comprende un cartucho reemplazable que comprende la composición farmacéutica; o (b) un dispositivo inyector de pluma desechable que se llena previamente con la composición farmacéutica.

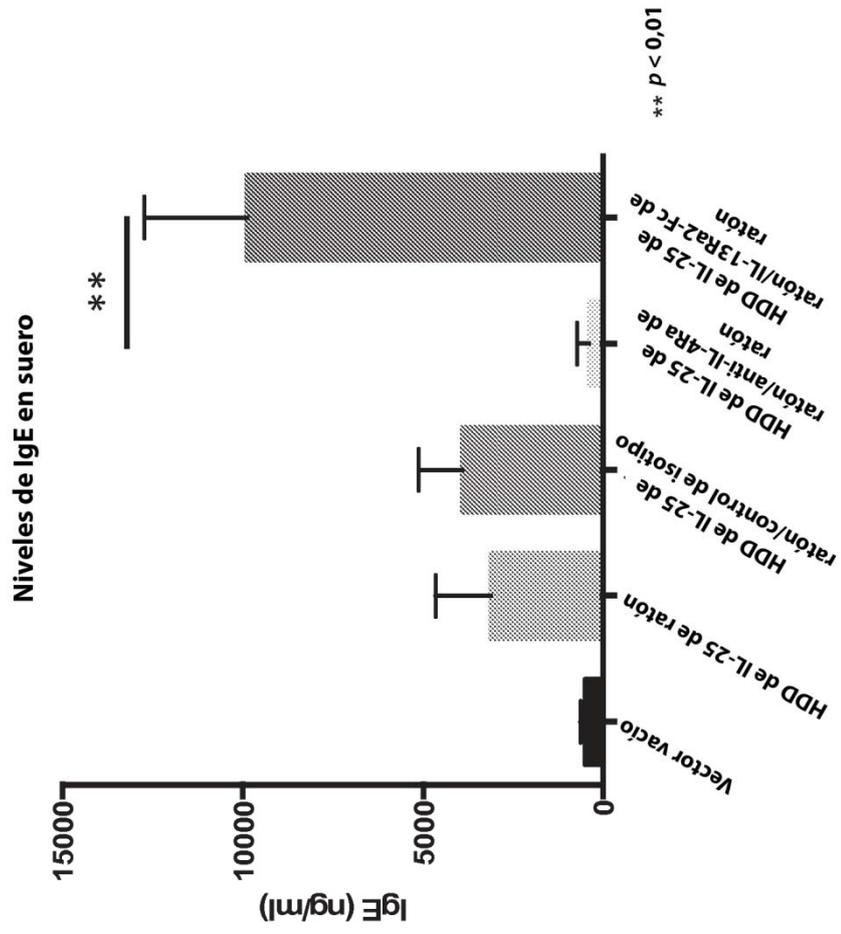


Figura 1

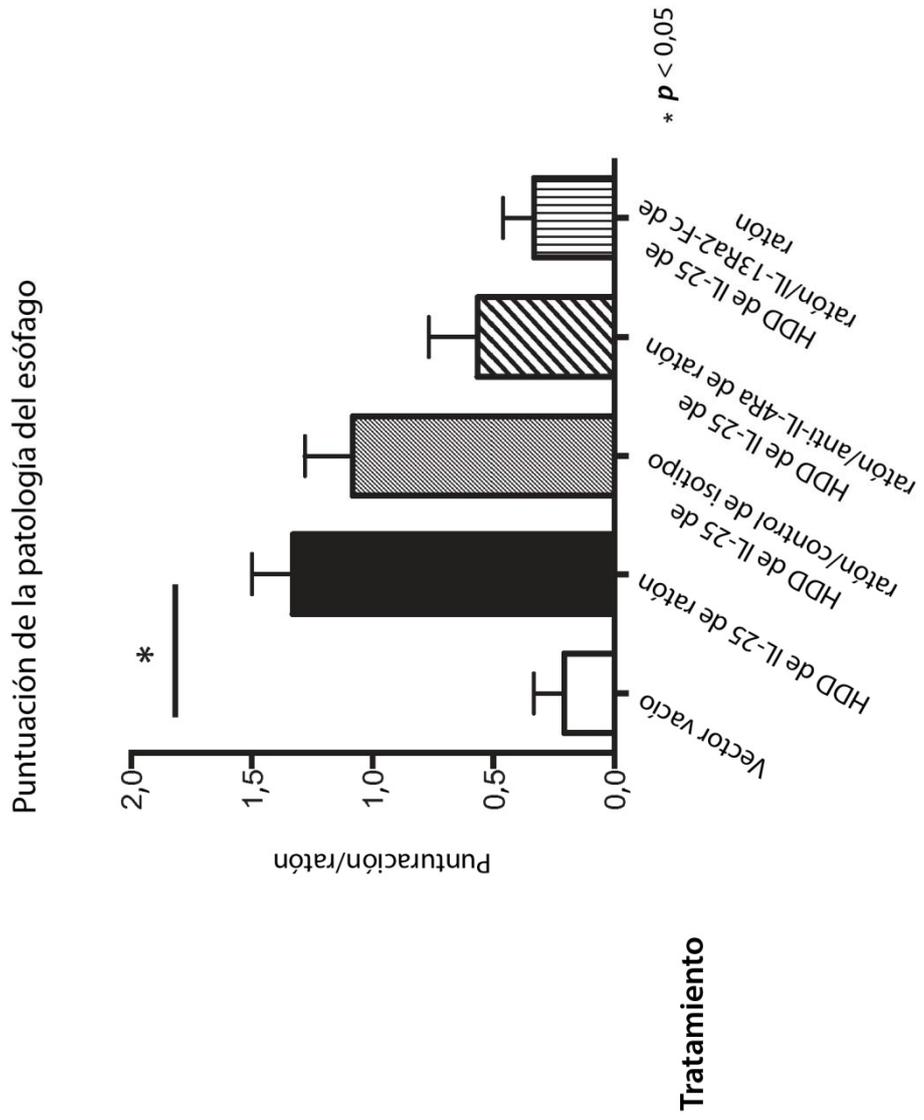
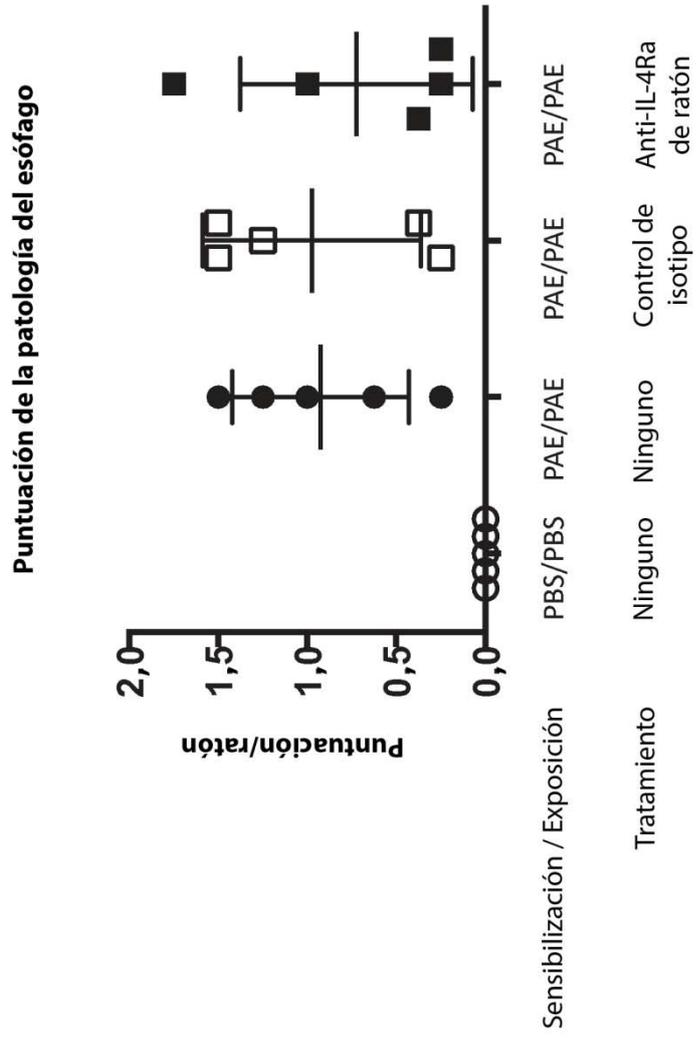


Figura 2



**Figura 3**

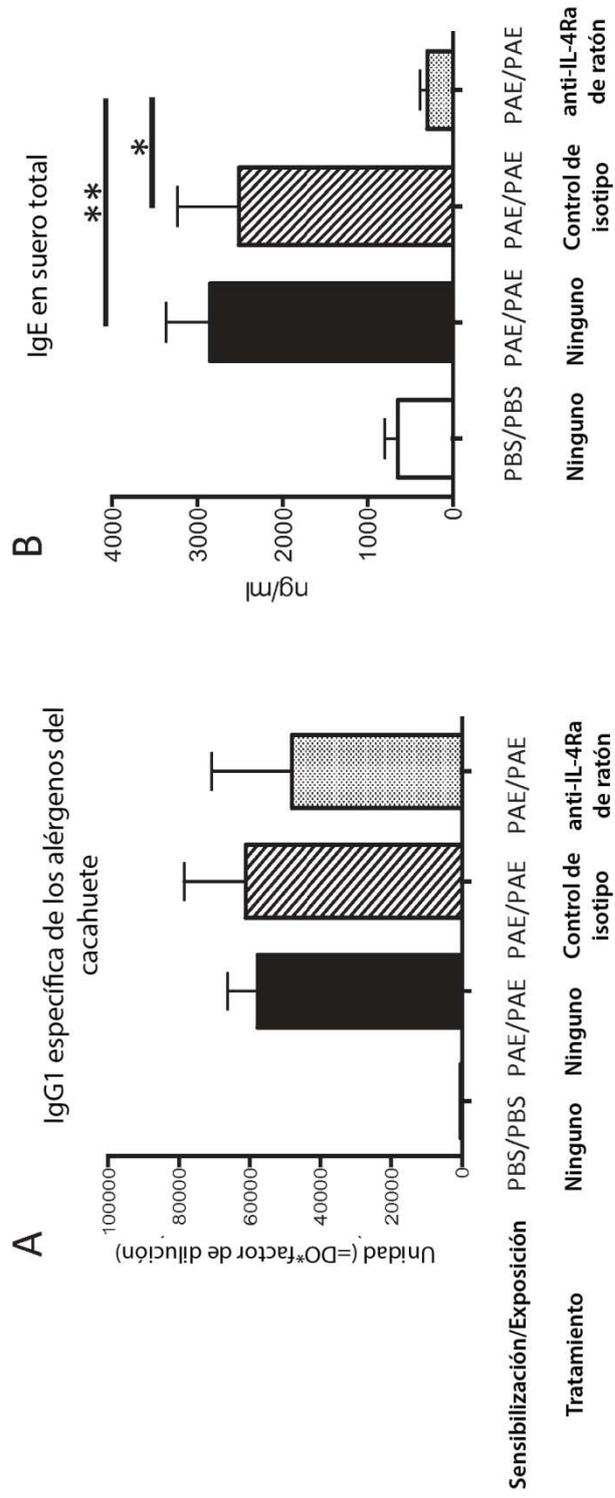


Figura 4