



Organización y
Digitalización CSA Ltda

BF

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO**

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

08-105676

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

MÉTODOS PARA TRATAR ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y AUTOINMUNES
CON NATALIZUMAB

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

DOMICILIO

SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA, U.S.A.

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438.019 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C.,

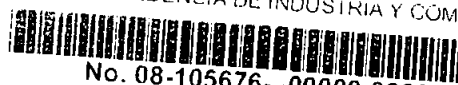
63


Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-105676- -00000-0000

 Fecha: 2008-10-03 16:09:13 Dep: 2020 NULCREACION
 Tra: 11 PATENTILYH Evt: 378 FASE NACIONAL
 Act: 411 PRESENTACION Folios: 185

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT**
ENTRADA EN FASE NACIONAL 03 oct. 2008
SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

 Nombre: **ELAN PHARMACEUTICALS, INC.**

sociedad constituida y existente bajo las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América.

 Dirección: 800 Gateway Boulevard,
 South San Francisco,
 California 94080,
 Estados Unidos de América

 Domicilio: South San Francisco,
 California,
 Estados Unidos de América

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

 Nombre: **EMILIO FERRERO**

Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35

Teléfono: 347 36 11

Fax: 211 86 50

 E-mail: clientes@cavelier.com

Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

 Número 438.019 T.P 31.929

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

 1. **Theodore A. YEDNOCK**

 184 Arroyo Road,
 Forest Knolls,
 California 94933,
 Estados Unidos de América

5

PCT (86)

 Solicitud Internacional No. PCT/US2007/005265

 Fecha: 2 de marzo de 2007

 Publicación Internacional No. WO 2007/103112 A3

 Fecha: 13 de septiembre de 2007

6

Título (54)
**METODOS PARA TRATAR ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y AUTOINMUNES
CON NATALIZUMAB**

7

Clasificación Internacional (51) A61K 039/395

8

Prioridad

 SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

3 de marzo de 2006

(31) Número de Solicitud

60/779,190

9

Comprobante de pago No.: 08-73,474
Fecha: 15 de septiembre de 2008

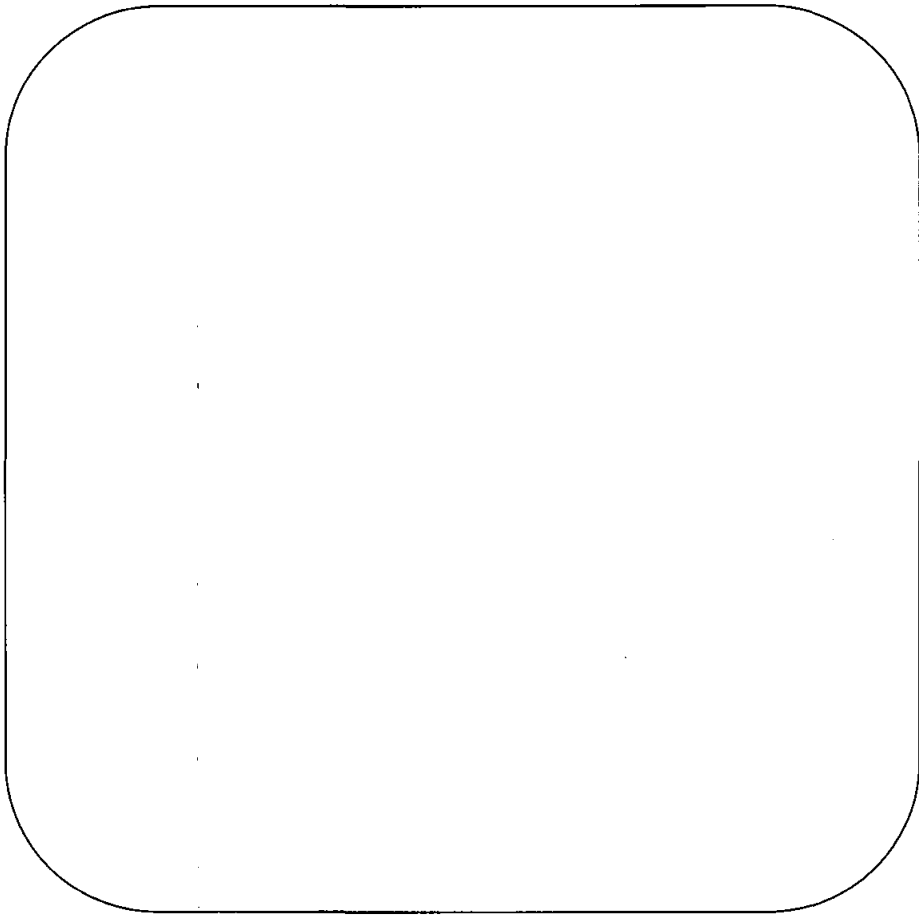
10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 501.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERRERO

FIRMA : 
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO WO 2007/103112 A3

Descripción:

Páginas 52 en el idioma original

Páginas 81 en español

Reivindicaciones: Número (s) 63

Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

CAVELIER
ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, B - COLOMBIA

193

Representación, Ratificación y Poder con autenticación notarial y Apostille para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, lemas comerciales, licencias.

Representation, Ratification and Power-of-Attorney with notarial authentication and Apostille for patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, domain names, slogans, licenses.

REPRESENTACIÓN Y PODER

REPRESENTATION AND POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

domiciliado (s) en/of **800 Gateway Boulevard, South San Francisco,**
California 94080, United States of America.

13170
6654

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, nombres de dominio, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del

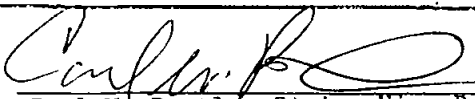
In due compliance with the terms of paragraph 1st of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all Industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive Impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time. In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys, at law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name, domicile, voluntary cancellation and registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer.

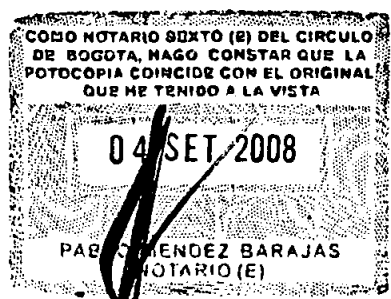
04 SET 2008
PABLO MENDEZ BARAJAS
NOTARIO (E)

consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistír, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Dado y firmado hoy/Given and signed this September 2, 2005
en/in South San Francisco, CA 94080, USA

Firma/Signature 
Carl W. Battle, Senior Vice President
Chief Intellectual Property Counsel



CERTIFICACIÓN NOTARIAL (SOCIEDAD)

A los _____ días del mes de _____
de 200 _____ compareció(eron) ante mí,
Carl W. Battle, Senior Vice President,
Chief Intellectual Property Counsel

Quien(es) conozco personalmente y que firma(n) este documento en
representación de la Sociedad/compañía denominada
ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

Certifico:

1. Que he visto los siguientes documentos:*

2. Que dichos documentos prueban lo siguiente:

2.1. Que **ELAN PHARMACEUTICALS, INC.**

es una Sociedad/Compañía legalmente constituida y existente de
acuerdo con las leyes del Estado de Delaware,
Estados Unidos de América

2.2. Que el domicilio de dicha Sociedad/Compañía es
800 Gateway Boulevard, South San Francisco,
California 94080, Estados Unidos de América.

2.3. Que el objeto u objetos para los cuales se otorga el presente
poder están comprendidos dentro del objeto social de la
mencionada Sociedad/Compañía.

4. Que el(los) Sr.(Sres.) Carl W. Battle, Senior
Vice President, Chief Intellectual Property
está(n) autorizado(s) para otorgar el presente Poder. Counsel

Ciudad _____

Estado _____

Hoy _____ de 200 _____

NOTARIO PÚBLICO O FUNCIONARIO AUTORIZADO -- NOTARY PUBLIC OR ATTESTING OFFICIAL

* Los documentos que certifican la existencia de la compañía deben
identificarse con fecha y origen

NOTARIAL CERTIFICATION (CORPORATION)

On this _____ day of _____
200 _____ appeared before me
Carl W. Battle, Senior Vice President,
Chief Intellectual Property Counsel

who(m) I know personally and who(m) signed this document as
representative(s) of the Corporation/Company named
ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

I certify:

1. That I have seen the following documents:*

- Articles of Incorporation

2. That the above documents duly prove the following:

2.1. That **ELAN PHARMACEUTICALS, INC.**

is a Corporation/Company legally constituted and in existence
in accordance with the laws of The State of Delaware,
United States of America.

2.2. That the domicile of said Corporation/Company is
800 Gateway Boulevard, South San Francisco,
California 94080, United States of America.

2.3. That the purpose or purposes for which the present Power of
Attorney is granted are comprised within the corporation purposes set
forth in the charter of the mentioned Corporation/Company.

2.4. That Mr.(Messrs.) Carl W. Battle, Senior Vice
President, Chief Intellectual Property Counsel
is(are) authorized to grant the present Power of Attorney

City South San Francisco

State California

This _____ day of _____ 200 _____

* The documents that certify the existence of the company must be
identified with date and origin

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: _____
This public document

2. has been signed by: _____

3. acting in the capacity of: _____

4. bears the seal/stamp of: _____

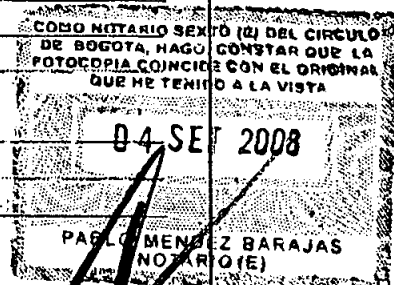
Certified

5. at: _____ 6. the _____

7. by _____

8. No. _____

9. Seal/stamp _____ 10. Signature _____



State of California

SECRETARY OF STATE

APOSTILLE

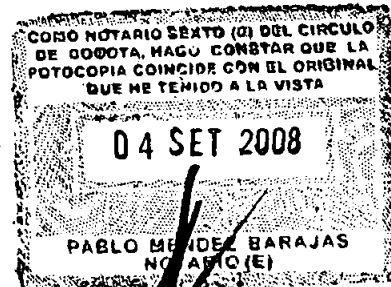
(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by PETER SURLA
3. acting in the capacity of Notary Public, State of California
4. bears the seal/stamp of PETER SURLA, Notary Public,
State of California

CERTIFIED

5. At Sacramento, California
6. the 3rd day of October 2005
7. by Deputy Secretary of State, State of California
8. No. 257972
9. Seal/Stamp:

10. Signature



Pablo Mendez Barajas

Secretary of State

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

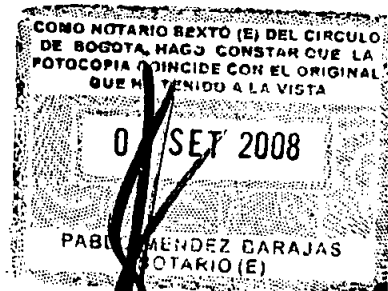
1. Country : United States Of America
2. This public document has been signed by **LORRAINE F STRUNK**
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC
- 4 bears the seal/stamp LORRAINE F STRUNK, NOTARY PUBLIC, MONTGOMERY COUNTY, COMMONWEALTH OF PENNSYLVANIA

Certified

5. at Harrisburg, Pennsylvania
6. The 3rd day of October, 2005
7. by Pedro A. Cortés, Secretary of the Commonwealth of Pennsylvania
8. No : 200536342
9. Seal/Stamp
10. Signature

Pedro A. Cortés

Pedro A. Cortés



CERTIFICATION OF AUTHORITY

1. I, Richard Collier Executive Vice President, General Counsel &
(name) (title) Secretary
of ELAN PHARMACEUTICALS, INC. do hereby certify that:

1.1. Carl W. Battle Senior Vice President, Chief Intellectual
is the Property Counsel
of ELAN PHARMACEUTICALS, INC. and that he/she is the authorized by ELAN
PHARMACEUTICALS, INC. to execute this Power of Attorney on its behalf.

1.2. That ELAN PHARMACEUTICALS, INC. is a corporation/company legally
constituted and in existence in accordance with the laws of the State of Delaware,
United States of America.

1.3. That the domicile of said corporation/company is 800 Gateway Boulevard,
South San Francisco, California 94080, United States of America.

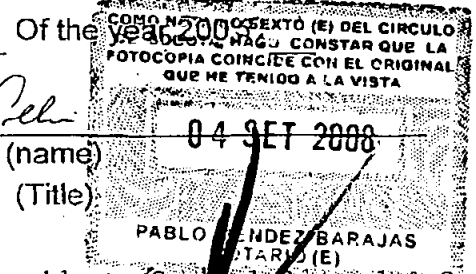
1.4. That the purpose or purposes for which the present Power of Attorney is
granted are comprised within the corporation purposes set forth in the charter of
the mentioned corporation/company.

2. For issuing this certification that I have seen the following documents:

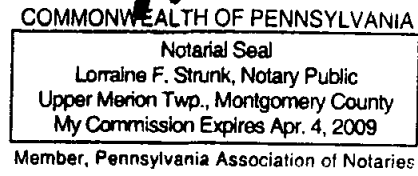
2.1. The Articles of Incorporation of ELAN PHARMACEUTICALS, INC.,
dated March 19, 2004

2.2. The Resolution of the Board of Directors and/or the By-Laws of ELAN
PHARMACEUTICALS, INC., dated _____

Signed this 6th of SEPTEMBER



Richard L. Collier
(name)
(Title)
Richard Collier
Executive Vice President, General Counsel & Secretary
Elan Pharmaceuticals, Inc.



Lorraine F. Strunk 9-6-05

TRADUCCIÓN OFICIAL 243/2005 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLÉS Y EN ESPAÑOL, REALIZADA POR EDUARDO CALADO NOGUERA, TRADUCTOR OFICIAL APROBADO POR RESOLUCIÓN 541 DEL 27 DE FEBRERO DE 1976 POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEBIDAMENTE REGISTRADO ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA Y MEDIANTE EL CUAL **ELAN PHARMACEUTICALS, INC.**, EMPRESA DOMICILIADA EN 800 GATEWAY BOULEVARD, SOUTH SAN FRANCISCO, CALIFORNIA 94080, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA, OTORGA PODER A EMILIO FERRERO, TPA 31929, GONZALO PERDOMO, TPA 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ TPA 23555 Y A GERMÁN CAVELIER, TPA 832. EXPEDIDO Y FIRMADO HOY 2 DE SEPTIEMBRE DE 2005 EN SOUTH SAN FRANCISCO CA 94080, ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA. FIRMADO: CARL W. BATTLE, VICEPRESIDENTE PRINCIPAL, JEFE DE ASUNTOS JURÍDICOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL.

CERTIFICADO NOTARIAL EN INGLÉS Y EN ESPAÑOL POR EL CUAL SE CERTIFICA LA COMPARECENCIA DE CARL W. BATTLE, VICEPRESIDENTE PRINCIPAL, JEFE DE ASUNTOS JURÍDICOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL PARA FIRMAR EL PODER ARRIBA CITADO A NOMBRE DE ELAN PHARMACEUTICALS INC. Y PARA CERTIFICAR LA EXISTENCIA LEGAL, EL DOMICILIO DE DICHA EMPRESA Y LA CAPACIDAD DE CARL W. BATTLE PARA COMPROMETER A DICHA FIRMA.

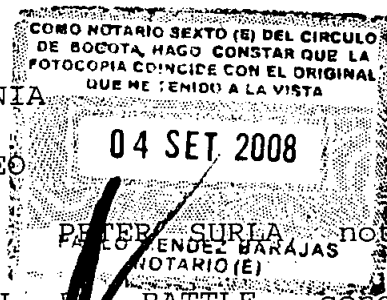
RECONOCIMIENTO MULTIPROPÓSITO DE CALIFORNIA

ESTADO DE CALIFORNIA, CONDADO DE SAN MATEO

El 2 de septiembre de 2005, ante mi, **PETER SURLA**, notario público, compareció personalmente **CARL W. BATTLE**, conocido personalmente por mi como la persona cuyo nombre está escrito en el documento adjunto y reconoció ante mi que ella firmó el mismo en su calidad autorizada y que mediante su firma en el documento la persona o entidad a cuyo nombre actuaba, firmó el documento.

Atestiguo mediante mi firma y sello oficial

Peter Surla



Sello: PETER SURLA, Cargo 1538923, notario público, California.

Condado de San Mateo. Mi cargo vence el 26 de diciembre de 2008.

Descripción del documento adjunto: Poder y representación.

Calidad reclamada por el firmante

Nombre del firmante: Carl W. Battle, vice-presidente principal,

Jefe de asuntos jurídicos de propiedad intelectual

El firmante representa a ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

CERTIFICACIÓN DE AUTORIZACIÓN

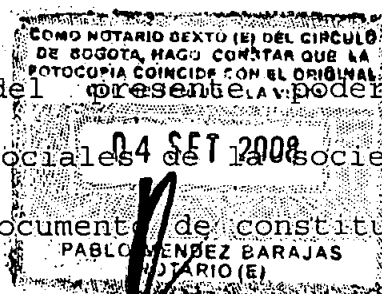
1. Yo, Richard Collier, vicepresidente ejecutivo, abogado general y secretario de ELAN PHARMACEUTICALS INC., por la presente certifico que:

1.1. Carl W. Battle es el vicepresidente principal, abogado principal de propiedad intelectual, de ELAN PHARMACEUTICALS INC, y que se encuentra autorizado por ELAN PHARMACEUTICALS, INC para firmar este poder a su nombre.

1.2. Que ELAN PHARMACEUTICALS INC, es una sociedad/compañía legalmente constituida y existente de conformidad con las leyes del estado de Delaware, Estados Unidos de América.

1.3. Que el domicilio de dicha sociedad/compañía es 800 Gateway Boulevard, South San Francisco, California 940080, Estados Unidos de América.

1.4. Que el objeto u objetos del presente poder están comprendidos dentro de los objetos sociales de la sociedad, de acuerdo con lo que se expone en el documento de constitución de dicha sociedad/entidad.



2. Con el fin de emitir esta certificación he visto los siguientes documentos:

2.1. El documento de constitución de ELAN PHARMACEUTICALS INC, de fecha 19 de marzo de 2004.

2.2. La Resolución de la Junta directiva y o los estatutos de ELAN PHARMACEUTICALS, INC de fecha (dato en blanco)

Firmado hoy 6 de septiembre de 2005.

Firmado: Richard Collier

Vicepresidente ejecutivo, abogado y secretario de Elan Pharmaceuticals Inc.

SELLO: ESTADO DE PENSILVANIA

SELLO NOTARIAL, Lorraine F. Strunk, notario público

Upper Merion Twp. Condado de Montgomery

Mi cargo vence el 4 de abril de 2009

Miembro de la asociación de notarios de Pensilvania.

FIRMADO: LORRAINE F. STRUNK, 9-6-05

ESTADO DE CALIFORNIA

APOSTILLA:

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. Estados Unidos de América

Este documento público

2. ha sido firmado por PETER SURLA

3. quien actúa en su calidad de NOTARIO PÚBLICO, ESTADO DE CALIFORNIA

4. lleva el sello de PETER SURLA NOTARIO PÚBLICO, ESTADO DE CALIFORNIA

CERTIFICADO

5. en SACRAMENTO, CALIFORNIA

6. el 3 de octubre de 2005

7. por el Secretario de estado suplente, estado de California

8. Número 257972

9. Sello:

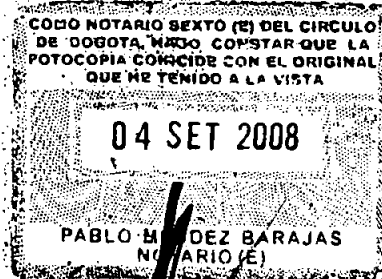
GRAN SELLO DEL ESTADO DE CALIFORNIA

10. Firma: (ILEGIBLE) secretario de estado de Ohio.

APOSTILLA:

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. Estados Unidos de América



Eduardo Calado N.
Eduardo Calado Noguera
•TRADUCTOR OFICIAL
INGLES - ESPAÑOL INGLIS
Res. 541 Febrero de 1990

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 20 P 1:50

Eduardo
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

1777 *Eduardo*
Eduardo

CUYA FIRMA ATTESTA EN EL
DOCUMENTO QUE SE ENVIARA
LAS FUNDAMENTACIONES

COMO NOTARIO SEXTO (E) DEL CIRCULO
DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA
04 SET 2008
PABLO MENDEZ ARAJAS
NOTARIO

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
Eduardo
Eduardo Vozquez
COINCIDE CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL (ELLOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA
20 OCT 2005
CODES JURIS CIVILIS

NOTARIA SEXTA
PABLO MENDEZ
ARAJAS
H
SANTAFE DE BOGOTA

Este documento público

2. ha sido firmado por LORRAINE F STRUNK

3. quien actúa en su calidad de NOTARIO PÚBLICO

4. lleva el sello de LORRAINE F STRUNK NOTARIO PÚBLICO,
CONDADO DE MONTGOMERY, ESTADO DE PENNSILVANIA

CERTIFICADO

5. en Harrisburg, Pensilvania

6. El 3 de octubre de 2005

7. por Pedro A. Cortés, secretario de estado de Pensilvania

8. Número 200536342

9. Sello: SECRETARIO DEL ESTADO DE PENNSILVANIA

10. Firma: PEDRO A. CORTÉS.

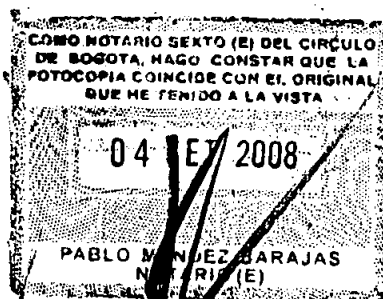
COLO-13562-841-001-5

WPCL002G ID 7193

Bogotá, 20 de octubre de 2005.

Eduardo Calado

Eduardo Calado Noguera
TRADUCTOR OFICIAL
INGLES - ESPAÑOL INGLÉS
Res. 541. Febrero de 1990.



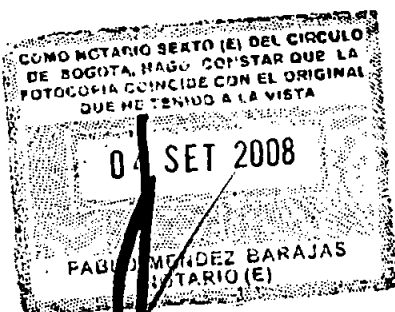
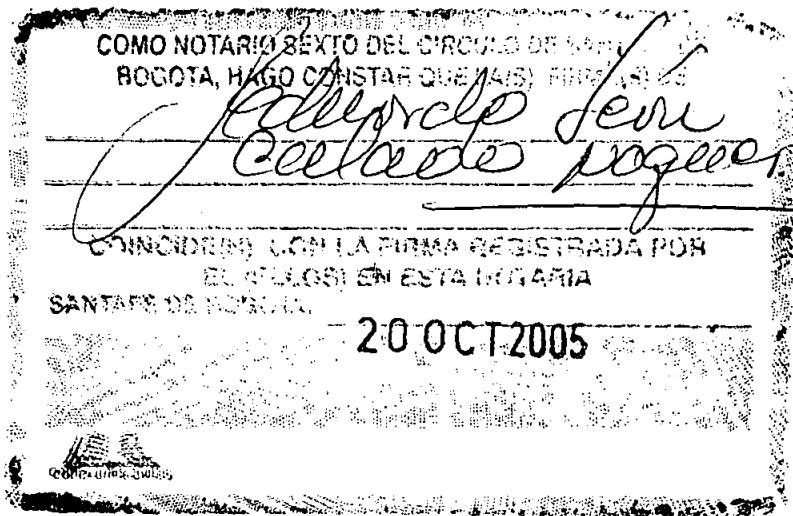
NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2005 OCT 20 P 1:50

Eduardo Calado
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

17/11/18
Eduardo Calado
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES DELEGADAS



15

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 September 2007 (13.09.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/103112 A3

- (51) International Patent Classification:
A61K 39/395 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2007/005265
- (22) International Filing Date: 2 March 2007 (02.03.2007)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/779,190 3 March 2006 (03.03.2006) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): ELAN
PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 800 Gateway
Boulevard, South San Francisco, CA 94080-7085 (US).
- (72) Inventor; and
- (75) Inventor/Applicant (for US only): YEDNOCK,
Theodore, A. [US/US]; 184 Arroyo Road, Forest Knolls,
CA 94933 (US).
- (74) Agent: GARRETT, Arthur, S.; Finnegan, Henderson,
Farabow, Garrett & Dunner, LLP, 901 New York Avenue,
NW, Washington, DC 20001 (US).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU,
SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(88) Date of publication of the international search report:
29 November 2007

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 2007/103112 A3

(54) Title: METHODS OF TREATING INFLAMMATORY AND AUTOIMMUNE DISEASES WITH NATALIZUMAB

(57) Abstract: Natalizumab is a safe and efficacious treatment for inflammatory and autoimmune diseases, such as multiple sclerosis, Crohn's Disease, and rheumatoid arthritis. Chain swapping between natalizumab and IgG4 molecules acts to reduce the level of bivalent natalizumab present following administration of natalizumab, and thus to lower the activity of natalizumab in the patient. Differences in IgG4 levels across patients or within a single patient across time may change the pharmacokinetic profile of natalizumab. Patients with lower levels of IgG4 may experience higher nadir levels of natalizumab during a dosing period. Monitoring IgG4 and/or bivalent natalizumab levels, and determining a dose or dosage period based on the monitoring may improve the safety and/or efficacy of natalizumab therapy.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
13 September 2007 (13.09.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/103112 A2

- (51) International Patent Classification:
A61K 39/395 (2006.01) G01N 33/574 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2007/005265
- (22) International Filing Date: 2 March 2007 (02.03.2007)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
60/779,190 3 March 2006 (03.03.2006) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): ELAN PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 800 Gateway Boulevard, South San Francisco, CA 94080-7085 (US).
- (72) Inventor; and
- (75) Inventor/Applicant (for US only): YEDNOCK, Theodore, A. [US/US]; 184 Arroyo Road, Forest Knolls, CA 94933 (US).
- (74) Agent: GARRETT, Arthur, S.; Finnegan, Henderson, Farabow, Garrett & Dunner, LLP, 901 New York Avenue, NW, Washington, DC 20001 (US).

- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 2007/103112 A2

(54) Title: METHODS OF TREATING INFLAMMATORY AND AUTOIMMUNE DISEASES WITH NATALIZUMAB

(57) Abstract: Natalizumab is a safe and efficacious treatment for inflammatory and autoimmune diseases, such as multiple sclerosis, Crohn's Disease, and rheumatoid arthritis. Chain swapping between natalizumab and IgG4 molecules acts to reduce the level of bivalent natalizumab present following administration of natalizumab, and thus to lower the activity of natalizumab in the patient. Differences in IgG4 levels across patients or within a single patient across time may change the pharmacokinetic profile of natalizumab. Patients with lower levels of IgG4 may experience higher nadir levels of natalizumab during a dosing period. Monitoring IgG4 and/or bivalent natalizumab levels, and determining a dose or dosage period based on the monitoring may improve the safety and/or efficacy of natalizumab therapy.

METHODS OF TREATING INFLAMMATORY AND AUTOIMMUNE DISEASES WITH NATALIZUMAB

PRIORITY CLAIM

[001] This application claims priority to United States Provisional Patent Application No. 60/779,190, filed March 3, 2006, the entire contents of which are hereby incorporated herein.

TECHNICAL FIELD

[002] The invention relates to methods of treating inflammatory and autoimmune diseases with a recombinant antibody. These methods improve the safety of treatment by adjusting the dose based on IgG4 antibodies in the patient.

BACKGROUND ART

[003] The migration of lymphocytes from the peripheral blood across the blood brain barrier has been reported to initiate the development of several central nervous system (CNS) inflammatory diseases. Lymphocyte entry into the CNS is mediated by cellular adhesion molecules (O'Neill et al., *Immunology* 72:520-525 (1991); Raine et al., *Lab. Invest.* 63:476-489 (1990); Yednock et al., *Nature* 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Steffen et al., *Am. J. Path.* 145:189-201 (1994); Christensen et al., *J. Immunol.* 154:5293-5301 (1995)).

[004] Cellular adhesion molecules present on the cell surface mediate the direct binding of one cell to another (Long et al., *Exp. Hematol.* 20:288-301 (1992)). The integrin and immunoglobulin supergene families of adhesion molecules regulate lymphocyte traffic into the CNS (Hemler et al., *Annu. Rev. Immunol.* 8:365-400 (1990); Springer et al., *Cell* 76:301-314 (1994); Issekutz et al., *Curr. Opin. Immunol.* 4:287-293 (1992)). Adhesion molecules have been widely reported to mediate inflammatory and autoimmune diseases, for example, asthma, Alzheimer's disease, atherosclerosis, AIDS dementia, diabetes, inflammatory bowel disease, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, tissue transplantation rejection, and tumor metastasis.

[005] Integrins are heterodimers of non-covalently linked α and β chains (Hemler et al., *Annu. Rev. Immunol.* 8:365-400 (1990)). The $\alpha 4 \beta 1$ (also called very late activation antigen-4 VLA-4) and $\alpha 4 \beta 7$ integrins are present on the surface of most types of white blood cells, where they mediate white cell binding to endothelial cells by interacting with their cognate receptors, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and mucosal addressin cellular

18

adhesion molecule-1 (MAdCAM-1), on the endothelial cell surface. Integrins are believed to play an important role in immune cell adhesion to the endothelial cell layer on blood vessels, facilitating their subsequent migration into inflamed tissues. Several studies implicate VLA-4 and, in particular the $\alpha 4$ integrin subunit, in CNS inflammation (Yednock et al., *Nature* 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Steffen et al., *Am. J. Path.* 145:189-201 (1994); Christensen et al., *J. Immunol.* 154:5293-5301 (1995). It has also been reported that VCAM-1 expression is elevated in inflamed brain tissue relative to normal brain tissue (Cannella and Raine, *Ann. Neurol.* 37:424-435 (1995); Washington et al., *Ann. Neurol.* 35:89-97 (1994); Dore-Duffy et al., *Frontiers in Cerebral Vascular Biology: Transport and Its Regulation*, 243-248 (Eds. Drewes & Betz, Plenum, N.Y. 1993)).

[006] The interaction between $\alpha 4\beta 1$ and its targets is a component of the inflammation that takes place in the CNS of patients with multiple sclerosis (MS). Under normal conditions, VCAM-1 is not expressed in the brain parenchyma. However, in the presence of pro-inflammatory cytokines, VCAM-1 is upregulated on endothelial cells and on microglial cells near the sites of inflammation (Elices et al., *Cell* 60:577-584 (1990); Lobb and Hemler, *J. Clin. Invest.* 94:1722-1728 (1994); Peterson et al., *J. Neuropathy Exp. Neurol.* 61:539-546 (2002)). Further, osteopontin, which exhibits many properties of a proinflammatory cytokine, is also upregulated in MS lesions (Chabas et al., *Science* 294:1731-1735 (2001)).

[007] MS is a serious and disabling inflammatory and autoimmune disease of young adults, with a peak age of onset in the third decade of life. Most individuals present with the relapsing-remitting form of the disease and experience recurrent attacks, which, over time, result in accumulating permanent physical disability and cognitive decline. About 70% of these individuals will eventually enter a phase of progressive neurological decline (secondary progressive MS), with or without superimposed relapses. Current treatments are minimally effective for secondary progressive MS. The majority of patients suffer permanent neurological dysfunction and, on average, have a life expectancy of six to seven years after the onset of disease.

[008] Currently, four therapies are approved in the United States for the treatment of relapsing forms of MS. The interferons, Betaseron[®] (interferon β -1b SC (subcutaneous)), AVONEX[®] (interferon β -1a IM (intramuscular)), and Rebif[®] (interferon β -1a SC), are cytokines with antiviral, antiproliferative, and immunomodulatory activities. Copaxone[®]

(glatiramer acetate) is a mixture of synthetic polypeptides with a poorly understood mechanism of action. The β -interferons can produce serious adverse events and some evidence suggests that copaxone is ineffective (Munari, et al., *The Cochrane Library*, Issue 1, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. (2004)).

[009] Serious adverse events of β -interferons include rare reports of hypersensitivity reactions, depression and suicide, decreased peripheral blood counts, hepatic injury, cardiomyopathy, and various autoimmune disorders (Betaseron Package Insert, 2003; Rebif Package Insert, 2004; AVONEX[®] Package Insert, 2005). The development of neutralizing antibodies to interferons is associated with a loss of efficacy. Antibodies that develop to a β -interferon cross-react with other interferons leading to loss of efficacy for the entire class in such patients (IFNB MS Study Group, *Neurology* 47:889-894 (1996) ; PRISMS Study Group, *Neurology* 56:1628-1636 (2001); Kappos et al., *Neurology* 65:40-47 (2005)). As a result, in the United States alone, over 50,000 patients who were previously treated no longer receive therapy. Thus, there is a large group of patients with active MS who are currently not receiving any approved therapy.

[010] Among those patients who do receive treatment, a significant number continue to experience disease activity, as observed clinically and by magnetic resonance imaging (MRI). Although a variety of therapeutic strategies are currently used in clinical practice to manage breakthrough disease while on treatment (e.g., switching therapy, changing dose and frequency of interferon, combination therapy), the similar efficacy between available medications and lack of clinical data demonstrating the effectiveness of any of these strategies in breakthrough patients makes the decision of what to do for these patients largely empirical. Each of the partially effective approved medications leads to an approximately 30% reduction in relapse rate and limited impact on disability progression (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998)); Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Data from the Phase 3 trials of β -interferon in MS show that 62% to 75% of subjects experienced at least one relapse during these 2-year trials despite interferon treatment (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998)). Similarly, 66% of subjects in the Phase 3 MS trial of glatiramer acetate

experienced at least one relapse during the 2-year period, a proportion that was not significantly different from placebo (Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)).

[011] Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML) is a severe, rapidly progressive disease that destroys the myelin coating which protects nerve cells. PML occurs almost exclusively in severely immunosuppressed patients and is frequently associated with lymphoproliferative and other chronic diseases, such as AIDS, Hodgkin's disease, chronic lymphocytic leukemia, sarcoidosis, tuberculosis, systemic lupus erythematosus, and organ transplantation. JC virus (JCV) is the etiological agent of PML and may result from a primary infection or follow reactivation of latent virus.

[012] Natalizumab, an $\alpha 4$ -integrin antagonist, has been used successfully to treat diseases with inflammatory and/or autoimmune components, for example, MS, Crohn's Disease, and rheumatoid arthritis. Natalizumab is a humanized IgG₄κ monoclonal antibody directed against the $\alpha 4$ -integrins $\alpha 4\beta 1$ and $\alpha 4\beta 7$. Chain swapping between natalizumab and other IgG₄ molecules may affect the pharmacokinetics of natalizumab. Differences in the concentration of IgG₄ between patients or within a patient over time may lead to differences in the concentration of bivalent natalizumab delivered over a dosing period. This may lead to variation in safety and/or efficacy between patients or within a patient over successive dosage periods.

[013] Variation in IgG₄ levels may also lead to excessive natalizumab activity in certain patients. This may lead to an increased risk of infection in those patients. For example, there are three known cases of PML occurring during or after administration of natalizumab, two proved fatal and one patient recovered. All three cases occurred in patients on concomitant medications which may have contributed to immunosuppression.

[014] Thus, there is a need in the art for determining the relationship between IgG₄ levels and natalizumab pharmacokinetics, and for adjusting natalizumab dose and dosage interval in certain patients in view of this information to improve the safety and/or efficacy of natalizumab treatment.

SUMMARY

[015] The invention provides safer methods of using natalizumab to treat patients with inflammatory and autoimmune diseases.

[016] In a first aspect, the invention provides a method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab by administering a dose of

natalizumab for a first dosage period; monitoring the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during the first dosage period; determining a second dose of natalizumab based on the level of bivalent natalizumab observed; and administering a second dose of natalizumab for a second dosage period; wherein the second dose improves the safety and/or efficacy of the treatment during the second dosage period. In an embodiment of the method the monitoring shows that the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum remains above a predetermined level during the first dosage period, and the corrected dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to achieve a reduction of the natalizumab level during the second dosage period to below the predetermined level during at least a portion of the second dosage period. In an embodiment the second dose is lower than the first dose. In an embodiment the second dosage period is longer than the first dosage period. In an embodiment the corrected dose is lower than the first dose, and wherein the second dosage period is longer than the first dosage period. In an embodiment the first dose is 300 mg administered by IV infusion and the first dosage period is four weeks. In an embodiment the predetermined level is about 1 $\mu\text{g/ml}$, and wherein the second dose is less than 300 mg administered by IV infusion and the second dosage period is more than four weeks. In an embodiment the predetermined level is about 0.5 $\mu\text{g/ml}$, and wherein the second dose is less than 300 mg administered by IV infusion and the second dosage period is more than four weeks. In an embodiment the predetermined level is about 0.1 $\mu\text{g/ml}$, and wherein the second dose is less than 300 mg administered by IV infusion and the second dosage period is more than four weeks.

[017] The invention also provides a method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab, wherein the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum falls below a predetermined level during the first dosage period within a predetermined time after administration of the first dose, and wherein the second dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to maintain the natalizumab level above the predetermined level.

[018] In an embodiment of the method the disease is multiple sclerosis. In an embodiment the multiple sclerosis is selected from relapsing remitting, secondary progressive, primary progressive, and chronic progressive multiple sclerosis. In an embodiment of the method the disease is inflammatory bowel disease or rheumatoid arthritis. In an embodiment the inflammatory bowel disease is Crohn's Disease.

[019] In an embodiment the method further includes monitoring the patient for indicators of serious infection and/or treating the patient with prophylaxis designed to reduce the risk of developing serious infection.

[020] In an embodiment the method further includes monitoring the patient for indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy. In an embodiment the monitoring detects JCV in the patient's urine, blood, and/or cerebrospinal fluid. In an embodiment the monitoring comprises serially removing samples of the patient's blood, measuring the amount of IgG antibodies to JCV in the samples, and comparing the amount of the antibodies in the samples. In an embodiment the monitoring further comprises measuring the amount of IgM antibodies to JCV in the samples, and comparing the amount of the IgM and IgG antibodies in the samples. In an embodiment the monitoring detects seroconversion and/or an increasing titer of JCV in the patient's urine and/or blood, and further includes removing a sample of the patient's cerebrospinal fluid when the comparison of the serial urine and/or blood samples detect seroconversion and/or an increasing titer of JCV; and testing the cerebrospinal fluid for the presence of JCV. In an embodiment the monitoring includes testing for clinical and/or radiologic symptoms of progressive multifocal leukoencephalopathy. In an embodiment the testing for clinical symptoms includes testing for new or worsening neurological symptoms. In an embodiment the neurological symptoms include one or more of central blindness, mental confusion, personality change, and dyskinesia. In an embodiment the testing for radiologic symptoms includes performing a Gd-enhanced magnetic resonance imaging scan. In an embodiment the method includes, in the presence of indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy, providing at least one treatment selected from intravenous immunoglobulin therapy, plasmapheresis, and antiviral therapy. In an embodiment the antiviral therapy comprises the administration of at least one therapeutically effective dose of an antiviral agent selected from cytosine arabinoside (cytarabine), cidofovir, and a serotonin antagonist. In an embodiment the serotonin antagonist is a 5HT2a antagonist.

[021] In an embodiment of the method the patient is not treated simultaneously with natalizumab and an immunosuppressive or antineoplastic agent. In an embodiment the immunosuppressive or antineoplastic agent is selected from one or more of chlorambucil, melphalan, 6-mercaptopurine, thiotepa, ifodfamide, dacarbazine, procarbazine, temozolomide, hexamethylmelamine, doxorubicine, daunorubicine, idarubicin, epirubicin,

irinotecan, methotrexate, etoposide, vincristine, vinblastine, vinorelbine, cytarabine, busulfan, amonifide, 5-fluorouracil, topotecan, mustargen, bleomycin, lomustine, semustine, mitomycin C, mutamycin, cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, methotrexate, trimetrexate, raltitrexid, flurorodeoxyuridine, capecitabine, florafur, 5-ethynyluracil, 6-thioguanine, cladribine, pentostatin, teniposide, mitoxantrone, losoxantrone, actinomycin D, vindesine, docetaxel, amifostine, interferon alpha, tamoxifen, medroxyprogesterone, megestrol, raloxifene, letrozole, anastrozole, flutamide, bicalutamide, retinoic acids, arsenic trioxide, rituximab, CAMPATH-1, mylotarg, mycophenolic acid, tacrolimus, glucocorticoids, sulfasalazine, glatiramer, fumarate, laquinimod, FTY-720, interferon tau, daclizumab, infliximab, IL10, anti-IL2 receptor antibody, anti-IL-12 antibody, anti-IL6 receptor antibody, CDP-571, adalimumab, entanercept, leflunomide, anti-interferon gamma antibody, abatacept, fludarabine, cyclophosphamide, azathioprine, cyclosporine, intravenous immunoglobulin, 5-ASA (mesalamine), and a β -interferon.

[022] In another aspect the invention provides a method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab by determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum; determining a dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum; and administering the dose of natalizumab to the patient over the dosage period; wherein the dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment compared to the safety and/or efficacy provided by the standard dose and dosage period of natalizumab. In an embodiment of the method the standard dose is 300 mg by IV infusion and the standard dosage period is every four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 $\mu\text{g/ml}$, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 $\mu\text{g/ml}$, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and

the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 15 µg/ml and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 15 ug/ml and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 15 µg/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 µg/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is shorter than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 µg/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is shorter than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 15 µg/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is shorter than four weeks.

[023] In an embodiment of the method the disease is multiple sclerosis. In an embodiment the multiple sclerosis is selected from relapsing remitting, secondary progressive, primary progressive, and chronic progressive multiple sclerosis. In an embodiment of the method the disease is inflammatory bowel disease or rheumatoid arthritis. In an embodiment the inflammatory bowel disease is Crohn's Disease.

[024] In an embodiment the method further includes monitoring the patient for indicators of serious infection and/or treating the patient with prophylaxis designed to reduce the risk of developing serious infection.

[025] In an embodiment the method further includes monitoring the patient for indications of progressive multifocal leukoencephalopathy. In an embodiment the monitoring detects JCV in the patient's urine, blood, and/or cerebrospinal fluid. In an embodiment the monitoring comprises serially removing samples of the patient's blood, measuring the amount of IgG antibodies to JCV in the samples, and comparing the amount of the antibodies in the samples. In an embodiment the monitoring further comprises measuring the amount of IgM antibodies to JCV in the samples, and comparing the amount of the IgM and IgG antibodies in the samples. In an embodiment the monitoring detects seroconversion and/or an increasing titer of JCV in the patient's urine and/or blood, and further includes removing a sample of the patient's cerebrospinal fluid when the comparison

25

of the serial urine and/or blood samples detect seroconversion and/or an increasing titer of JCV; and testing the cerebrospinal fluid for the presence of JCV. In an embodiment the monitoring includes testing for clinical and/or radiologic symptoms of progressive multifocal leukoencephalopathy. In an embodiment the testing for clinical symptoms comprises testing for new or worsening neurological symptoms. In an embodiment the neurological symptoms comprise one or more of central blindness, mental confusion, personality change, and dyskinesia. In an embodiment the testing for radiologic symptoms comprises performing a Gd-enhanced magnetic resonance imaging scan. In an embodiment the method further includes, in the presence of indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy, providing at least one treatment selected from intravenous immunoglobulin therapy, plasmapheresis, and antiviral therapy. In an embodiment the antiviral therapy comprises the administration of at least one therapeutically effective dose of an antiviral agent selected from cytosine arabinoside (cytarabine), cidofovir, and a serotonin antagonist. In an embodiment the serotonin antagonist is a 5HT_{2a} antagonist.

[026] In an embodiment of the method the patient is not treated simultaneously with natalizumab and an immunosuppressive or antineoplastic agent. In an embodiment the immunosuppressive or antineoplastic agent is selected from one or more of chlorambucil, melphalan, 6-mercaptopurine, thiotepe, ifodfamide, dacarbazine, procarbazine, temozolomide, hexamethylmelamine, doxorubicine, daunorubicine, idarubicin, epirubicin, irinotecan, methotrexate, etoposide, vincristine, vinblastine, vinorelbine, cytarabine, busulfan, amonifide, 5-fluorouracil, topotecan, mustargen, bleomycin, lomustine, semustine, mitomycin C, mutamycin, cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, methotrexate, trimetrexate, raltitrexid, flurorodeoxyuridine, capecitabine, florafur, 5-ethynyluracil, 6-thioguanine, cladribine, pentostatin, teniposide, mitoxantrone, losoxantrone, actinomycin D, vindesine, docetaxel, amifostine, interferon alpha, tamoxefen, medroxyprogesterone, megestrol, raloxifene, letrozole, anastrzole, flutamide, bicalutamide, retinoic acids, arsenic trioxide, rituximab, CAMPATH-1, mylotarg, mycophenolic acid, tacrolimus, glucocorticoids, sulfasalazine, glatiramer, fumarate, laquinimod, FTY-720, interferon tau, daclizumab, infliximab, IL10, anti-IL2 receptor antibody, anti-IL-12 antibody, anti-IL6 receptor antibody, CDP-571, adalimumab, entanercept, leflunomide, anti-interferon gamma antibody, abatacept, fludarabine, cyclophosphamide, azathioprine, cyclosporine, intravenous immunoglobulin, 5-ASA (mesalamine), and a β -interferon.

[027] In another aspect the invention provides a method of using natalizumab to treat a patient with an inflammatory or autoimmune disease by determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum; administering a dose of natalizumab for a first dosage period; monitoring the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during the first dosage period; determining a second dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum and on the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum; and administering the second dose of natalizumab for the second dosage period; wherein the second dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment. In an embodiment of the method, the monitoring shows that the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum remains above a predetermined level during the first dosage period, and the second dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to achieve a reduction of the natalizumab level during the second dosage period to below the predetermined level during at least a portion of the second dosage period. In an embodiment the first dose of natalizumab is 300 mg administered by IV infusion for a first dosage period of four weeks. In an embodiment the predetermined level is about 1 $\mu\text{g/ml}$. In an embodiment the predetermined level is about 0.5 $\mu\text{g/ml}$. In an embodiment the predetermined level is about 0.1 $\mu\text{g/ml}$. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion. In an embodiment the patient's blood is below 200 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 $\mu\text{g/ml}$, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 $\mu\text{g/ml}$, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 15 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion. In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's blood is below 15 $\mu\text{g/ml}$ and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the amount of IgG4

in the patient's blood is below 15 $\mu\text{g/ml}$, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks. In an embodiment the standard dose of natalizumab is 300 mg IV infusion and the standard dosage period is four weeks.

[028] In another embodiment of the method the corrected dose is lower than the first dose, or the second dosage period is longer than the first dosage period, or the corrected dose is lower than the first dose and the second dosage period is longer than the first dosage period. In an embodiment the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum falls below a predetermined level during the first dosage period within a predetermined time after administration of the first dose, and wherein the second dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to maintain the natalizumab level above the predetermined level at least up to the predetermined time after administration of the second dose during the second dosage period.

[029] In another embodiment the method further includes monitoring the patient for indicators of serious infection. In an embodiment the serious infection is progressive multifocal leukoencephalopathy. In an embodiment the method further includes treating the patient with prophylaxis designed to reduce the risk of developing serious infection. In an embodiment the serious infection is progressive multifocal leukoencephalopathy.

[030] In another aspect the invention provides a method of using natalizumab to treat a patient with an inflammatory or autoimmune disease by determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum prior to initiating treatment; initiating treatment of the patient with natalizumab in the event the amount of IgG4 in the patients plasma or serum is above a predefined threshold; and initiating treatment of the patient with natalizumab with increased monitoring for indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy and/or opportunistic infections in the event the amount of IgG4 in the patients plasma or serum is at or below a predefined threshold; wherein determining of the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum improves the safety and/or efficacy of the treatment. In an embodiment of the method the amount of IgG4 in the patients plasma or serum is at or below a second predefined threshold, treatment is not initiated. In an embodiment treatment is initiated if the amount of IgG4 in the patient's blood is about 200 $\mu\text{g/ml}$ or higher. In an embodiment treatment is initiated if the amount of IgG4 in the patient's blood

is about 100 µg/ml or higher. In an embodiment treatment is initiated if the amount of IgG4 in the patient's blood is about 15 µg/ml or higher.

[031] In an embodiment the method further includes determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum during treatment; and terminating treatment in the event the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum is below a predefined threshold. In an embodiment treatment is terminated if the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum is about 200 µg/ml or lower. In an embodiment treatment is terminated if the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum is about 100 µg/ml or lower. In an embodiment treatment is terminated if the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum is about 15 µg/ml or lower.

[032] In an embodiment the method further includes monitoring the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during treatment; and terminating treatment in the event the amount of bivalent natalizumab is above a predefined threshold. In an embodiment treatment is terminated if the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum is about 1 µg/ml or higher. In an embodiment treatment is terminated if the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum is about 0.5 µg/ml or higher. In an embodiment treatment is terminated if the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum is about 0.1 µg/ml or higher.

[033] In an embodiment the method further includes monitoring the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during treatment; and terminating treatment in the event the amount of bivalent natalizumab is above a predefined threshold. In an embodiment treatment is terminated if the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum is about 1 µg/ml or higher. In an embodiment treatment is terminated if the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum is about 0.5 µg/ml or higher. In an embodiment treatment is terminated if the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum is about 0.1 µg/ml or higher. In an embodiment intravenous immunoglobulin is administered to the patient to reduce the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum. In an embodiment plasmapheresis therapy is administered to the patient to reduce the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum.

[034] In another aspect the invention provides a method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab by administering a dose of natalizumab for a first dosage period; monitoring the amount of bivalent natalizumab in the

patient's plasma or serum during the first dosage period; determining a second dose of natalizumab based on the level of bivalent natalizumab observed; administering a second dose of natalizumab for a second dosage period; and administering the second dose of natalizumab for one or more subsequent second dosage periods; wherein the second dose improves the safety and/or efficacy of the treatment during the second dosage period.

[035] In another aspect the invention provides a method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab by determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum; determining a dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum; administering the dose of natalizumab to the patient over the dosage period; and administering the dose of natalizumab to the patient over one or more subsequent dosage periods; wherein the dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment compared to the safety and/or efficacy provided by the standard dose and dosage period of natalizumab.

[036] In another aspect the invention provides a method of using natalizumab to treat a patient with an inflammatory or autoimmune disease by determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum; administering a dose of natalizumab for a first dosage period; monitoring the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during the first dosage period; determining a second dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum and on the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum; administering the second dose of natalizumab for the second dosage period; and administering the second dose of natalizumab for one or more subsequent second dosage periods; wherein the second dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment.

Description of the Invention

Definitions

[037] The terms used herein have their ordinary meanings, as set forth below, and can be further understood in the context of the specification.

[038] A "patient" or "subject," used interchangeably herein, is a human unless otherwise indicated.

[039] "Treatment" means any administration or application of remedies for disease and includes inhibiting the disease, arresting its development, and relieving the disease, for

example, by causing regression, or restoring or repairing a lost, missing, or defective function or by stimulating an inefficient process.

[001] "Terminating" means either a temporary or a permanent cessation.

[002] "Dose" means the amount of natalizumab administered to a patient.

[003] "Dosage period" means the time between the administration of a dose and the next successive administration of a dose. The dosage period may change with one or more further successive dose or doses, or may remain constant.

[004] "Natalizumab" or "Natalizumab®" is a humanized antibody against VLA-4 as described in U.S. Patent Nos. 5,840,299 and 6,033,665, which are herein incorporated by reference in their entireties. Also contemplated herein are other antibodies specific for VLA-4, including, but not limited to, immunoglobulins described in U.S. Patent Nos. 6,602,503 and 6,551,593, and published U. S. Application No. 20020197233 by Relton et al. These antibody can be prepared by the methods disclosed in these documents, by mammalian cell expression systems, and by transgenic animal expression systems, for example, transgenic goats.

[005] A "pharmaceutically effective amount" or "therapeutically effective amount," used interchangeably, is an amount sufficient to cure or at least partially arrest the symptoms of a disease and/or the complications of a disease.

[006] A "serotonin antagonist" is any substance that decreases one or more effect of serotonin.

[007] "Seroconversion" is the change of a serologic test from negative to positive, indicating the development of antibodies.

[008] "Titer" is the concentration of an antibody in solution.

IgG4 Antibodies

[009] Antibodies are proteins used by the immune system to identify and neutralize foreign objects like bacteria and viruses. Each antibody recognizes a specific antigen unique to its target. Immunoglobulins are glycoproteins in the immunoglobulin superfamily that function as antibodies. They are synthesized and secreted by plasma cells that are derived from the B cells of the immune system. B cells are activated upon binding to their specific antigen and differentiate into plasma cells. In some cases, the interaction of the B cell with a T helper cell is also necessary.

[010] Immunoglobulins are heavy plasma proteins, often with added sugar chains on N-terminal (all antibodies) and occasionally O-terminal (IgA1 and IgD) amino acid residues. The basic unit of each antibody is a monomer. An antibody can be monomeric, dimeric, trimeric, tetrameric, pentameric, etc. The monomer is a "Y"-shape molecule that consists of two identical heavy chains and two identical light chains connected by disulfide bonds.

[011] There are five types of heavy chain: γ , δ , α , μ and ϵ . They define classes of immunoglobulins. Heavy chains α and γ have approximately 450 amino acids, while μ and ϵ have approximately 550 amino acids. Each heavy chain has a constant region, which is the same by all immunoglobulins of the same class, and a variable region, which differs between immunoglobulins of different B cells, but is the same for all immunoglobulins produced by the same B cell. Heavy chains γ , α and δ have the constant region composed of three domains but have a hinge region; the constant region of heavy chains μ and ϵ is composed of four domains. The variable domain of any heavy chain is composed of one domain. These domains are about 110 amino acids long. There are also some amino acids between constant domains. There are only two types of light chain: λ and κ . In humans, they are similar, but only one type is present in each antibody. Each light chain has two successive domains: one constant and one variable domain. The approximate length of a light chain is from 211 to 217 amino acids.

[012] The monomer is composed of two heavy and two light chains. Together this gives six to eight constant domains and four variable domains. Enzymatic cleavage with papain creates two Fab (fragment antigen binding) fragments and an Fc (fragment crystallizable) fragment, whereas pepsin cleaves below hinge region, so a f(ab)₂ fragment and a fc fragment is formed. Thus, each half of the forked end of the "Y"-shape monomer is called the Fab fragment. It is composed of one constant and one variable domain of each the heavy and the light chain, which together shape the antigen binding site at the amino terminal end of the monomer. The two variable domains bind the antigens they are specific for and that elicited their production.

[013] The Fc fragment is composed of two heavy chains that each contribute two to three constant domains (depending on the class of the antibody). It binds to various cell receptors and complement proteins. In this way, it mediates different physiological effects of antibodies (opsonization, cell lysis, mast cell, basophil and eosinophil degranulation and other processes). The variable regions of the heavy and light chains can be fused together to

form a single chain variable fragment (scFv), which retains the original specificity of the parent immunoglobulin.

[014] Immunoglobulins are grouped into five classes, or isotypes, based on differences in heavy chain constant domains: IgG, IgA, IgM, IgD, and IgE. (The isotypes are also defined with light chains.) Other immune cells partner with antibodies to eliminate pathogens depending on which IgG, IgA, IgM, IgD, and IgE constant binding domain receptors it can express on its surface.

[015] The antibodies that a single B lymphocyte produces can differ in their heavy chain and the B cell often expresses different classes of antibodies at the same time. However, they are identical in their specificity for antigen, conferred by their variable region. To achieve the large number of specificities the body needs to protect itself against many different foreign antigens, it must produce millions of B lymphocytes.

[016] IgG is a monomeric immunoglobulin, built of two heavy chains γ and two light chains. Each molecule has two antigen binding sites. This is the most abundant immunoglobulin and is approximately equally distributed in blood and in tissue liquids. This is the only isotype that can pass through the placenta, thereby providing protection to the fetus in its first weeks of life before its own immune system has developed. It can bind to many kinds of pathogens, for example viruses, bacteria, and fungi, and protects the body against them by complement activation (classic pathway), opsonization for phagocytosis and neutralisation of their toxins. There are 4 subclasses: IgG1 (66%), IgG2 (23%), IgG3 (7%) and IgG4 (4%). IgG1, IgG3 and IgG4 cross the placenta easily. IgG3 is the most effective complement activator, followed by IgG1 and then IgG2. IgG4 does not activate complement. IgG1 and IgG3 bind with high affinity to Fc receptors on phagocytic cells. IgG4 has intermediate affinity and IgG2 affinity is extremely low.

[017] Immunoglobulin G4 (IgG4) antibodies have been known for some time to be functionally monovalent. Recently, the structural basis for this monovalency has been elucidated: the *in vivo* exchange of IgG half-molecules (one H-plus one L-chain) among IgG4. This process results in bispecific antibodies that in most situations will behave as functionally monovalent antibodies. The structural basis for the abnormal behaviour of IgG4 seems to be largely the result of a single amino acid change relative to human IgG1: the change of a proline in core hinge of IgG1 to serine. This results in a marked shift in the equilibrium between interchain disulphide bridges and intrachain disulphide bridges, which

for IgG4 results in 25-75% absence of a covalent interaction between the H-chains. Because of strong non-covalent interactions between the CH3 domains (and possibly also between the CH1 domain and the *trans*-CH2 domain) IgG4 is a stable four-chain molecule and does not easily exchange half-molecules under standard physiological conditions *in vitro*. The exchange may be catalysed *in vivo* by protein disulphide isomerase (PDI) and/or FcRn (the major histocompatibility complex (MHC)-related Fc receptor) during transit of IgG4 in the endosomal pathway in endothelial cells, or by an unknown mechanism. Because IgG4 is predominantly expressed under conditions of chronic antigen exposure, the biological relevance of this exchange of half-molecules is that it generates antibodies that are unable to form large immune complexes and therefore have a low potential for inducing immune inflammation. In contrast to monovalent immunoglobulin fragments, these scrambled immunoglobulins have a normal half-life. The significance of the ensuing bispecificity needs further evaluation, because this will be relevant only in situations where high IgG4 responses are found to two unrelated antigens that happen to be present in the body at the same time and place. In this context the significance of IgG4 autoreactivity might have to be re-evaluated. The main function of IgG4, however, is presumably to interfere with immune inflammation induced by complement-fixing antibodies, or, in the case of helminth infection or allergy, by IgE antibodies.

[018] Most monoclonal antibodies consist of one type of L- and H-chain and have two identical antigen binding sites, which makes each monoclonal antibody molecule bivalent. In the case of IgG4, however, half-molecule exchange *in vivo* creates antibodies that are bispecifically monovalent. The experimental evidence supporting this view of IgG4 structure *in vivo* includes the observations that polyclonal IgG4 antibodies do not crosslink two antigens, i.e. are functionally monovalent; in contrast to polyclonal IgG4 antibody, monoclonal (chimeric) IgG4 antibody does crosslink two antigens; a substantial fraction of IgG4 (both monoclonal and polyclonal) lacks a covalent interaction between the heavy chains, but is maintained as a four-chain structure solely via non-covalent bonds; and bispecific antibodies can be found in plasma, which are mostly, if not exclusively, of the IgG4 type. Quantitatively, the level of bispecific reactivity can be predicted from the level of antigen-specific IgG4 antibodies.

Natalizumab

[019] Natalizumab is a recombinant humanized IgG₄κ monoclonal antibody directed against the α4-integrins α4β1 and α4β7. Natalizumab contains human framework regions and the complementarity-determining regions of a murine antibody that binds to α4-integrin. The molecular weight of natalizumab is 149 kilodaltons.

[020] Studies by Yednock and others have shown the clinical efficacy of α4-integrin blockade in experimental allergic encephalomyelitis (EAE), an animal model of MS (Yednock et al., *Nature* 1992; 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Kent et al., *J. Neuroimmunol.* 58:1-10 (1995); Brocke et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96:6896-6901 (1999). These data demonstrated that α4-integrin blockade by a bound antibody can prevent leukocyte migration into the brain and thus support the hypothesis that α4-integrins are a target for MS therapeutics. In addition, these observations support the hypothesis that blocking leukocyte accumulation in the brain will prevent the local destruction of myelin, the insulating sheath covering nerve fibers, and neurons, which characterizes MS lesions. Natalizumab is the first antibody directed at this target and clinical data demonstrate the relevance of this treatment strategy.

[021] Natalizumab is a member of an emerging class of agents known as the Selective Adhesion Molecule (SAM) Inhibitors. Natalizumab binding to α4β1 (also called VLA-4) and α4β7 integrins inhibits their molecular interactions with cognate integrin receptors on endothelial cells, VCAM-1 and MAdCAM-1, respectively. By inhibiting these molecular interactions, natalizumab prevents the recruitment and egress of leukocytes into sites of inflammation. A further mechanism of natalizumab action may be to suppress ongoing inflammatory reactions in diseased tissues by inhibiting the interaction of α4-expressing leukocytes with other ligands in the extracellular matrix (osteopontin and fibronectin) and on parenchymal cells, such as microglial cells (VCAM-1). As such, natalizumab may suppress ongoing inflammatory activity at the disease site and inhibit further recruitment of immune cells into inflamed tissues. Thus, treating MS patients with natalizumab may block entry of mononuclear leukocytes into the CNS and attenuate the inflammatory process that results in demyelination and axonal damage and ultimately provide clinical benefit by reducing the number of clinical relapses and the progression of disability, including motor, visual, and cognitive function.

35

Pharmacokinetics of Natalizumab

[022] Following the repeat intravenous administration of a 300 mg dose of natalizumab to multiple sclerosis patients, the mean maximum observed serum concentration was 98 ± 34 $\mu\text{g/mL}$. Mean average steady-state natalizumab concentrations over the dosing period were approximately 30 $\mu\text{g/mL}$. The mean half-life of 11 ± 4 days was observed with a clearance of 16 ± 5 mL/hour. The distribution volume of 5.7 ± 1.9 L was consistent with plasma volume.

[023] As measured in an in vitro receptor saturation assay, natalizumab, straight from the vial, saturates lymphocytes in whole blood at 0.3 to 1 $\mu\text{g/mL}$. This result is consistent with observations on cell adhesion, where stringent adhesion requires 1 $\mu\text{g/mL}$ natalizumab. However, using the same assay to examine natalizumab in patient serum samples, receptor saturation appeared to require greater than 10 $\mu\text{g/mL}$. This effect may result from natalizumab swapping one of its IgG4 arms with other IgG4 antibodies in the serum in vivo, resulting in a loss of avidity and potency. Based on work with other single chain antibodies, this change could easily affect potency by 100-fold. Therefore, any meaningful natalizumab activity in the blood would most likely come from bivalent molecules remaining in the circulation after equilibrium was established with endogenous IgG4. Data indicates that this process appears to occur in a stoichiometric fashion over a relatively short period of time (hours to days). Thus, within hours or days the level of bivalent natalizumab present depends upon the starting level of endogenous IgG4.

[024] A typical range for endogenous IgG4 is about 200 to 1000 $\mu\text{g/mL}$ in humans. Based on calculations of the stoichiometry, when natalizumab is present at 10 $\mu\text{g/mL}$ (the typical nadir blood level following a 300 mg dose administered IV over a four week dosage period), the level of bivalent natalizumab would range from 0.02 to 0.24 $\mu\text{g/mL}$ at nadir levels (averaging 0.12 $\mu\text{g/mL}$). These values fit very well with the 75-85% receptor saturation levels observed with natalizumab in patient samples at nadir levels. Functional saturation with bivalent natalizumab occurs at 1 $\mu\text{g/mL}$. The level of bivalent natalizumab, however, increases significantly with lower levels of endogenous IgG4. For example, assuming a nadir level of natalizumab at 10 $\mu\text{g/mL}$, in a patient with 50 $\mu\text{g/mL}$ of endogenous IgG4 the level of bivalent natalizumab would be ~ 1 $\mu\text{g/mL}$ (or saturation). So patients with levels of endogenous IgG4 lower than about 50 $\mu\text{g/mL}$, for example, may have chronically saturating levels of natalizumab throughout the dosing period. At an IgG4 concentration of

36

about 15 ug/ml the level of fully functional, bivalent natalizumab at nadir levels would be 2.5 ug/ml, well above receptor saturation. If an individual lacked IgG4 entirely, functional levels of natalizumab would be the same as the measured nadir levels, or about 10 ug/ml in a patient receiving a 300 mg dose by IV infusion over a four week dosing period.

[025] As the exemplary calculations above make clear, a patient with a level of endogenous IgG4 equal to or below a certain level, such as about 200 ug/ml, about 100 ug/ml, about 50 ug/ml, about 15 ug/ml, or about zero would likely have a very different clinical profile with natalizumab than patients with normal levels of endogenous IgG4 (more that about 1 ug/ml functional antibody vs. 0.12 ug/ml).

[026] These calculations also demonstrate that natalizumab exhibits strong efficacy even though concentrations drop below full occupancy levels for one or two weeks every month in typical patients, receiving a standard dose of 300 mg by IV infusion over a four week dosing period. This observation suggests that cell traffic into the CNS of typical patients is only partially inhibited during part of each dosing period. However, in a minority of patients, particularly those with low levels of endogenous IgG4, higher nadir levels of bivalent natalizumab may result in prolonged receptor saturation with natalizumab, resulting in complete inhibition of α 4-integrins α 4 β 1 and α 4 β 7 for the dosing period and more profound inhibition cell trafficking. One consequence of this condition is that those patients are at a higher risk of serious infection while being treated with natalizumab.

[027] Any factor that alters the nadir level of total natalizumab during a dosage interval will also affect the nadir level of bivalent, fully active natalizumab antibody. For example, in a patient with 100 ug/ml of endogenous IgG4, if nadir natalizumab levels are doubled, from 10 ug/ml to 20ug/ml, then the level of bivalent antibody would triple, increasing from 0.5 ug/ml (below saturation) to 1.8 ug/ml (above saturation). Factors in addition to IgG4 levels that could affect the level of bivalent, fully active natalizumab antibody present during a dosing period include body weight, concomitant medication, and treatment duration. When using a fixed dose of natalizumab, differences in body weight can affect natalizumab levels by up to three-fold, e.g., 3 vs. 9 ug/ml or 6 vs. 16 ug/ml.

[028] Although the effect of AVONEX® on pharmacokinetics is disputed, data derived from a small subset of patients indicate that nadir levels of natalizumab were 12 ug/ml with natalizumab alone (which is in line with all other studies) vs. 25 ug/ml when natalizumab is coadministered with AVONEX®. This is a difference that again, could triple the level of

bivalent natalizumab molecules. Even if this effect isn't statistically significant for the population at large - if AVONEX[®] affects the upper limit of the range or nadir concentrations of natalizumab for even a small number of individuals, it could cause a significant change in the risk profile across the total population of patients.

[029] Natalizumab may be administered repeatedly, such as at four week intervals. The number of prior doses of natalizumab may affect nadir levels experienced during each subsequent dosage interval. For example, concentration levels appear to increase with repeat dosing 5 ug/ml before dose number two vs. 12 ug/ml for dose number 15. Thus, Tysabri may accumulate with repeated dosing.

Methods of Treatment

[030] Pharmaceutical compositions of natalizumab will be administered intravenously. The dose of natalizumab administered and the dosage period may be fixed across all or a class of patients or may be determined based on patient weight. For example, in an embodiment natalizumab is administered at a dose of from one to five mg per kg body weight by IV infusion. Alternatively, a fixed dose of natalizumab may be administered to all patients or to a class of patients independent of the body weight of the patients. For example, in an embodiment natalizumab is administered at a dose of 300 mg by IV infusion.

[031] In an embodiment, the dose, either weight-based or fixed, is determined or adjusted based on the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum and/or the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum.

[032] In an embodiment the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum and/or the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum are determined during a dosing period. The amount of bivalent natalizumab may be determined directly or may be determined or estimated indirectly, such as by measuring the amount of IgG4 and/or total natalizumab in the patient's plasma or serum and calculating or estimating the amount of bivalent natalizumab on the basis of those measurements.

[033] In an embodiment the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum may be used to determine a suitable dose and dosage period for administration of natalizumab, either prior to and/or after initiation of treatment. If the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 µg/ml, below 100 ug/ml, below 15 ug/ml, or lower, such as undetectable, the dose of natalizumab determined on the basis of the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum may be lower than the standard dose or lower than the dose previously given to the

patient. Also, the determined dosage period may be longer than the standard dosage period, or longer than one or more previously scheduled dosage periods. For example, the determined dose may be below 300 mg by IV infusion, the determined dosage period may be longer than four weeks, or the determined dose may be below 300 mg by IV infusion and the determined dosage period may be longer than four weeks.

[034] In an embodiment the amount of bivalent natalizumab in a patient's plasma or serum during a first dosage period may be used to determine a second dose of natalizumab for administration for a second dosage period. For example, if the monitoring shows that the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum remains above a predetermined level during the first dosage period, the corrected dose of natalizumab administered over the second dosage period can be designed to achieve a reduction of the natalizumab level during the second dosage period to below the predetermined level during at least a portion of the second dosage period. This can be achieved, for example, by determining a second dose lower than the first dose, a second dosage period longer than the first dosage period, or by determining a second dose lower than the first dose and a second dosage period longer than the first dosage period. For example, the predetermined level may be about 1 ug/ml, about 0.5 ug/ml, or about 0.1 ug/ml. The second dose of natalizumab may be below a standard dose and/or the determined dosage period may be longer than a standard dosage period. For example, the determined dose may be below 300 mg by IV infusion, the determined dosage period may be longer than four weeks, or the determined dose may be below 300 mg by IV infusion and the determined dosage period may be longer than four weeks.

ELISA Assays for Total and Bivalent Natalizumab

[035] The amount of total natalizumab in a solution, for example a biological fluid such as plasma or serum, can be measured using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). The invention provides ELISA assays that measure both monovalent and bivalent natalizumab. Specifically, it provides solid-phase sandwich ELISAs for measuring the concentration of total natalizumab and the concentration of bivalent natalizumab. Generally, the ELISA assays described herein utilize antiidiotype antibodies specific for natalizumab and enzyme-linked antibodies to the Fc region of IgG4 antibodies.

[036] In both the total natalizumab and bivalent natalizumab ELISAs, the antiidiotype antibody is bound to a solid surface. Any antiidiotype antibody specific for natalizumab is

suitable for use in the ELISA. The antibody 12C4 is an example of an antiidiotype antibody specific for the natalizumab variable region and suitable for use in the assay. Suitable solid surfaces are well known in the art and include microtiter plates.

[037] In the ELISA assay for total natalizumab, the antiidiotype antibody is bound to the surface at high density. In an embodiment, 12C4 is bound at a density of approximately 2 ug/ml. A fluid solution comprising an unknown quantity of natalizumab is added and allowed to interact with the antiidiotype antibody bound to the surface under conditions sufficient for natalizumab in the solution to bind to the antiidiotype antibody. The unbound portion of the solution is removed by washing the surface. The natalizumab which bound to the antiidiotype antibody is then detected using an antibody which is specific for the Fc region of IgG4 antibodies and is conjugated, directly or indirectly, to an enzyme. The surface is again washed to remove unbound enzyme-conjugated IgG4. A substrate for the enzyme is added and the reaction product is measured. The amount of reaction product correlates with the amount of natalizumab in solution. Suitable enzymes, substrates, and measuring devices are well-known in the art. In an embodiment, a commercially available antibody to IgG4 conjugated to alkaline phosphatase is used to detect bound natalizumab.

[038] The amount of bivalent natalizumab can also be measured by solid phase sandwich ELISA using methods provided herein. An antiidiotype antibody is bound to a solid surface at low density. In an embodiment, 12C4 is bound to the surface at a density of approximately 0.3 ug/ml. A solution comprising an unknown quantity of natalizumab is allowed to interact as described above for the total natalizumab ELISA. The natalizumab is then detected with an antiidiotype antibody specific for bivalent natalizumab, which does not recognize either natalizumab monomers in solution or natalizumab monomers which has exchanged an IgG4 heavy chain with endogenous IgG4 and remain bound to the endogenous IgG4. The antiidiotype antibody used in the detection step is conjugated to a detectable enzyme. The antiidiotype antibody 12C4 is suitable for use in the bivalent natalizumab assay both as the solid phase bound antibody and/or as the detecting antibody. When used as the detecting antibody, 12C4 is conjugated to a detectable enzyme.

[039] A wide variety of enzyme detection systems are known in the art. They include alkaline phosphatase conjugates, avidin and streptavidin conjugates, horseradish peroxidase conjugates, beta-galactosidase conjugates, and the like. A wide variety of substrates are

also well known in the art and include 4-nitrophenylphosphate, 2-nitrophenyl - β -D-galactopyranoside, 2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulfonate].

[040] The concentration of both total and bivalent natalizumab in the serum of monkeys treated with natalizumab was determined using the ELISA assays of the invention.

Natalizumab was measured 4, 24, and 72 hours after dosing with 3 mg/kg. The results of the 4 hr and 24 hr measurements are shown in Table 1. The acronym "blq" is used to denote that the result was below the limit of quantification. Serum spiked with 10 μ g/ml natalizumab was used as a positive control.

Table 1: Total and Bivalent Serum Natalizumab Levels

	Experiment 1		Experiment 2		Experiment 3
	4 hr		24 hr		
<u>Animal</u>	<u>Total Nat.</u>	<u>Bivalent Nat.</u>	<u>Total Nat.</u>	<u>Bivalent Nat.</u>	<u>Bivalent Nat.</u>
1	56.1	37.3	17.4	48.3	16.7
2	53.0	32.6	14.1	1.0	0.5
3			21.1	47.0	16.9
4	66.8	31.0	10.8	0.3	1.8
5	65.4	38.0	19.8	41.7	15.2
6			8.9	0.5	0.3
7	54.6	30.0	7.3	blq	0.2
8	53.0	27.8	9.6	blq	0.2
9			17.3	14.2	5.4
10	54.1	37.4	12.9	29.0	6.1
11	57.4	28.5	10.1	0.4-3	0.2
12			18.7	35.2	18.7

Safety of Natalizumab

[041] The safety of natalizumab is demonstrated herein, based on results of treating 3,919 subjects with natalizumab in clinical trials for MS, Crohn's Disease, and rheumatoid arthritis, resulting in 5,505 patient-years of natalizumab exposure. Treatment with natalizumab was generally well tolerated. Eighteen treatment-emergent deaths occurred in the entire natalizumab program. The adverse events encountered in the trials, both common and serious, were similar in natalizumab-treated patients and controls. Adverse events that

led to discontinuation of natalizumab occurred in 5.8% of natalizumab-treated MS patients and in 4.8% of placebo-treated MS patients, with urticaria being the most common cause of discontinuation in the natalizumab-treated patients (1.2%).

[042] Like other highly active drugs used to treat autoimmune diseases, natalizumab is not without risk. Unfortunately, with the clinical efficacy of immunomodulatory agents such as natalizumab comes the risk of significant mechanism-based side effects. The risks of medications that modulate immune function in order to treat serious chronic diseases have been well recognized over the past several years. Medicines such as the TNF α antagonists (e.g., infliximab, adalimumab, and etanercept) are potent modulators of immune function and are approved for numerous serious autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis, Crohn's Disease, psoriasis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis. Although very effective, these agents are associated with serious adverse events, particularly infections that have been associated with significant morbidity and mortality.

[043] The invention provides the identification, through detailed safety analyses, of PML as a rare, but significant, risk of natalizumab treatment. In addition, serious non-PML opportunistic infections have been observed in natalizumab-treated patients, mostly in Crohn's Disease patients in association with concurrent immunosuppressant use or other significant co-morbidities. In addition, we have identified patient populations in whom the benefit-risk profile is less well defined. The occurrence of these infections highlights the need for a comprehensive risk management program in the post-marketing setting focused on appropriate use conditions and assessment and minimization of the risk of PML and other serious opportunistic infections.

Deaths

[044] Of the eighteen deaths that occurred during the clinical trials, five occurred in the placebo-controlled MS trials, including two in patients who had received natalizumab and three who had received placebo). The patients who received natalizumab died of alcohol intoxication and metastatic malignant melanoma. The patients who received placebo died of cardiac arrest, respiratory arrest, and pleural carcinomatosis with seizures. Four deaths occurred in the open-label MS trials, due to respiratory distress, PML, suicide, and seizure due to MS.

[045] Six deaths of natalizumab-treated Crohn's Disease patients were observed in the trials. The exposure to natalizumab was approximately three-fold greater in these trials than

exposure to placebo. The causes of death were acute myocardial infarction, acute renal failure, carbon dioxide asphyxiation, PML, *pneumocystis carinii* pneumonia, and bronchopulmonary aspergillosis.

[046] Three deaths occurred in the rheumatoid arthritis trials, two in natalizumab-treated patients and one in a patient treated with a placebo. The natalizumab-treated patients died of hemoptysis with respiratory failure and end-stage rheumatoid pulmonary disease. The placebo-treated patient died of circulatory and respiratory insufficiency.

[047] In the MS studies, apart from PML, no other safety signal was apparent from the study deaths. In the Crohn's Disease studies, one patient died from PML. Two additional deaths in Crohn's Disease were associated with opportunistic infections, namely, bronchopulmonary aspergillosis and *pneumocystis carinii* pneumonia. These patients had significant co-morbidities, which may have contributed to the development of these infections.

Adverse Events

[048] At least one serious adverse event was encountered by 251 of the 1,617 natalizumab-treated MS patients (15.5%) and by 214 of the 1,135 placebo-treated patients (18.9%) in the placebo-controlled trial. The most common serious adverse events, classified by organ systems, were nervous system disorders (5.9% natalizumab, 10.2% placebo). MS relapse contributed significantly to this incidence (4.7% natalizumab, 9.0% placebo). The second most common serious adverse events were infections and infestations (2.4% natalizumab, 2.2% placebo), with appendicitis and urinary tract infection (<1% in both groups) as the most common.

[049] The incidence of hypersensitivity reactions, an event expected to result from treatment with therapeutic proteins, was approximately 4% with serious systemic reactions occurring at an incidence of less than 1%. The reactions tended to occur early in the treatment course, but were observed throughout the course of infusion. Although the specific mechanisms of the reactions have not been determined, clinically, the reactions appeared to be typical IgE- or IgG-mediated immediate-type hypersensitivity reactions. All patients recovered without sequelae.

[050] The occurrence of malignancy during natalizumab treatment was uncommon. The incidence of malignancy was balanced between the natalizumab and control groups. The rates of malignancies observed during natalizumab treatment were within the expected rates

per comparison with the existing cancer registries, such as the National Cancer Institute's Surveillance Epidemiology and End Results.

Evaluation of PML Cases

[051] Three confirmed cases of PML have been identified, two of which were fatal. Two cases occurred in MS patients and one in a patient with Crohn's Disease. Both MS patients received natalizumab for over two years in addition to AVONEX[®]. The Crohn's Disease patient received eight doses of natalizumab over an 18-month period and was immunocompromised due to chronic azathioprine use as manifested by persistent lymphopenia. All three PML patients presented with subtle clinical changes early in their disease course that were noted by the patients or their families.

[052] The first patient to contract a fatal case of PML was a 46-year-old female with MS who presented to her neurologist with right-sided paresthesia and dysesthesia, and right upper extremity clumsiness. MRI brain scanning demonstrated four non-enhancing T2-hyperintense lesions bilaterally in the corona radiata. Six weeks later, she presented with new blurring of the vision in her right eye. Visual acuity was 20/15 in the left eye and 20/100 in the right. Spinal fluid analysis yielded one white blood cell, normal protein and glucose, and no oligoclonal bands. A follow-up MRI brain scan revealed two new subcortical lesions in the right parietal region that were hyperintense on FLAIR imaging and hypointense on T1.

[053] AVONEX[®] treatment was initiated, but she subsequently suffered three relapses, the most recent of which involved band-like pain around the abdomen, lower extremity weakness, and spasticity requiring treatment with methylprednisolone. Her Expanded Disability Status Scale (EDSS) score in prior to entry into the placebo-controlled MS study, as described in more detail below, was 2.5. She received 30 infusions of natalizumab before entering the open-label extension study and receiving an additional seven infusions. She had no exacerbations or suspected relapses during her time in the placebo-controlled study. She developed five new or enlarging T2-hyperintense lesions during the first year of the placebo-controlled study and one during the second year. She was negative for anti-natalizumab antibodies and her serum concentration of natalizumab was similar to the mean of the study populations throughout her participation.

[054] In November 2004, she began to experience motor dysfunction, and cognitive and language difficulties, which progressed to right hemiparesis by the following month. An

MRI brain scan performed in December 2004 revealed left frontal T2-hyperintensity and T1-hypointensity with extension into the centrum semiovale and corona radiata without Gd-enhancement. She received two courses of high dose steroids over the next few months, but continued to decline. She received her last dose of natalizumab on January 18, 2005. She was readmitted to the hospital on February 12, 2005 with worsening clinical status. A repeat MRI brain scan in February 2005 showed extension of the lesion seen previously. An extensive work-up over the next week revealed JC viral DNA in the CSF, resulting in the diagnosis of PML. She died on February 24, 2005. Post-mortem examination revealed normal organs without evidence of opportunistic infection. The brain examination revealed extensive, severe cavitation mainly in the left hemisphere as well as multiple non-cavitated, ovoid areas throughout the white matter of both hemispheres typical of PML, having reactive astrocytes with enlarged, hyperchromatic nuclei (Kleinschmidt-DeMasters and Tyler, *N. Engl. J. Med.* 353:369-374 (2005)).

[055] The second patient is a 46-year-old male who experienced his first symptoms of relapsing/remitting MS in 1983. His past medical history is significant for auricular zoster, Ramsay-Hunt syndrome, and melanoma. His family history is notable for a sister with MS. He had been treated with AVONEX[®] since 1998, and experienced three relapses the year before enrolling in the placebo-controlled MS study, during which he experienced no relapses or evidence of progression. He was negative for anti-natalizumab antibodies and his serum concentration of natalizumab was similar to the mean of the study populations throughout his participation.

[056] In October 2004, his MRI scan showed a small periventricular Gd-enhancing lesion on the right and a small right frontal, subcortical, non-enhancing, T2-hyperintense lesion. In November 2004, he exhibited behavioral changes followed by hemiparesis and cognitive impairment. His last dose of natalizumab was in December 2004. In February 2005, despite treatment with high dose intravenous methylprednisolone, he continued to deteriorate. A brain MRI scan in February 2005 demonstrated extension of the previously identified lesion. He underwent an extensive work-up, including CSF analysis and brain biopsy, which resulted in the diagnosis of PML. Cidofovir treatment was initiated without clinical effect. The JC viral load decreased in his plasma and CSF over the next few months. This corresponded to further deterioration in his clinical course and development of Gd-enhancing lesions on MRI, consistent with Immune Reconstitution Inflammatory

Syndrome. He continued to receive treatment with cidofovir, and cytarabine was added. Approximately 3 months following discontinuation of natalizumab, he began to improve. He is able to converse and can hold high-level conversations about his medical course and treatment, but has significant residual cognitive impairment with left hemiparesis and ataxia (Langer-Gould et al., *N. Eng. J. Med.* 353:375-381(2005)).

[057] The final patient was a 60-year-old male with a 28-year history of Crohn's Disease. Over the course of his illness, he had been treated with azathioprine, oral budesonide, corticosteroids, and four doses of infliximab. He displayed pre-existing signs of impaired hematopoiesis, predominantly lymphopenia and anemia, since 1996 and received azathioprine beginning in 1999. He was enrolled in a Phase 3 study of natalizumab in patients with active Crohn's Disease in March 2002 and received three doses concomitantly with azathioprine prior to being randomized to placebo in a Phase 3 maintenance study. He remained on azathioprine and placebo until November 2002 when azathioprine was discontinued due to refractory pancytopenia. In February 2003, he began open-label treatment with natalizumab. He was negative for anti-natalizumab antibodies and his serum concentration of natalizumab was similar to the mean of the study populations throughout his participation.

[058] In July 2003, one month after his fifth dose of natalizumab, he presented with a one-week history of cognitive decline. A brain MRI scan demonstrated a large T2-hyperintense lesion in the right frontal lobe, and additional hyperintense lesions in the left frontal and temporal lobes that did not enhance with gadolinium. He underwent a partial resection of the lesion, the pathology of which was read at the time as an anaplastic astrocytoma, WHO Grade III. He was treated with corticosteroids and anticonvulsants, but was too ill for radiation therapy. Follow-up MRI six weeks after surgery showed tumor extension. He deteriorated clinically and died in December 2003. The case was reported by the treating physician as a malignant astrocytoma, based upon the final pathology report. In February, as a result of the one confirmed and one suspected case of PML described above, his case was reassessed and determined to be PML following consultation with two independent neuropathologists with expertise in PML (Van Assche et al., *N. Engl. J. Med.* 353:362-368 (2005)).

[059] Clinical trial patients exposed to natalizumab were systematically assessed for evidence of incipient PML or any other opportunistic infection. Patients were evaluated if

they had any active neurological deterioration for which PML could not be excluded as a diagnosis, showed MRI abnormalities for which PML could not be ruled out, or their CSF had detectable JCV DNA titers.

[060] Criteria were established prospectively for the neuroradiologic evidence and laboratory assays for the diagnosis of PML. A diagnosis of "confirmed PML" was defined by presence of progressive clinical disease, MRI signs typical of PML, detection of JCV DNA in CSF, or pathologic confirmation. Sufficient evidence to exclude PML was defined as lack of progressive neurological disease, MRI lesions not typical of PML or stable over time, or no detectable JCV DNA in the CSF if the MRI was suspicious. A case was deemed "indeterminate" if there was clinical or MRI suspicion of PML and follow-up clinical, MRI, or CSF data could not be obtained.

[061] A total of 3,826 eligible study participants (2,248 MS patients, and 1,578 Crohn's Disease/rheumatoid arthritis patients) were notified to report to their treating physician/investigators for an assessment. Investigators were requested to perform the assessment procedure, including medical history, neurological examination, brain MRI, and CSF collection. Blood samples were also collected for PCR analysis of JCV DNA as an exploratory adjunct. MRI scans were assessed by Central Reader Centers with expertise in neurological disorders, including the two Central Reader Centers for the original Phase 3 MS studies. A consensus guideline was developed prospectively to standardize criteria to help distinguish MS white matter abnormalities from those of PML.

[062] In all, 3,389 (89%) study patients with MS, Crohn's Disease, or rheumatoid arthritis were assessed by their treating physician, 3,116 of whom had received natalizumab. The remaining 273 patients had received placebo as part of a clinical trial and were included as a control group. Of the 437 that were not assessed, 60 (22 MS patients, 38 Crohn's Disease/rheumatoid arthritis patients) were lost to follow-up. Amongst the 3,389 patients who participated, 2,046 were MS study patients, over 97% of whom were seen within three months of their last natalizumab dose. Six MS patients were referred for further evaluation. Of these clinical trial patients, five were referred due to neurological worsening and one due to possible PML based on MRI findings. MRI scan review effectively ruled out the diagnosis of PML in the five patients referred based on clinical concern. Repeat MRI and CSF analysis excluded PML in the case referred based on MRI findings.

[063] Of the 1,349 Crohn's Disease/rheumatoid arthritis patients who participated in the safety evaluation, 21% were seen within three months of their last dose, 91% within six months. Thirty-five patients were evaluated, including one due to clinical or neurological symptoms, 32 based on suspicious changes on MRI, one due to high plasma JCV copy number, and one due to an inability to perform MRI in a patient with a normal neurological examination. The higher rate of examination of Crohn's Disease compared to MS was predominantly driven by the lack of baseline MRI scans for comparison in the Crohn's Disease population. Most cases were deemed not to be PML based on review of neurological examination, MRI and, if available, CSF testing. For the ten cases in which concern still remained, repeat MRI assessments were performed and all were diagnosed as "not PML" based on lack of clinical progression, lack of MRI progression over two months following the initial MRI leading to referral for evaluation, and in some cases, results of CSF testing.

[064] MRI scans of the brain with and without Gd-enhancement and a FLAIR sequence were sometimes a useful tool for excluding a diagnosis of PML in the MS cases. The existence of pre-treatment and on-treatment MRI scans increased specificity and assisted in interpretation of the follow-up MRI scans obtained at varying time points, especially in the setting when the patient's neurological condition was worsening. During the safety evaluation process, comparison to previous scan was required in approximately 35% percent of MS cases because of the presence of lesions for which PML could not be definitely excluded. After comparison to a prior scan, the neuroradiologist was able to exclude PML in greater than 99% of MS cases.

[065] CSF was available for testing in 396 patients who had been treated for MS or Crohn's Disease with natalizumab. JCV was not detected in any of these cases, including 19 patients evaluated based on clinical or MRI criteria. Samples from 411 patients with MS and other neurological disorders served as CSF and plasma controls and were evaluated in collaboration with the Karolinska Institute and the National Institutes of Health (Yousry et al., *N. Engl. J. Med.* scheduled for publication March 2, 2006). No detectable JCV was found in these CSF samples, confirming the specificity of the CSF assay for only active cases of PML. Each of the three patients with confirmed PML had detectable JCV DNA. A previous study had indicated that JCV was found in 11% of the biological specimens of the 121 MS patients tested (Ferrante et al., *Multiple Sclerosis* 4:49-54 (1998)).

[066] Plasma was tested for the presence of JCV DNA as an exploratory measure. The entire consenting study population (2,370 patients) was evaluated using a high-throughput automated system of DNA extraction and PCR analysis. In addition, a random subset of samples was assessed using a manual low-throughput method. Although the manual method was demonstrated to be an order of magnitude more sensitive than the high-throughput system, given the techniques involved, testing using this method was only possible in approximately 10% of the overall population (209 patients). Of the 2,370 patients from the safety evaluation who were tested for JC viremia, only five patients (0.2%) had detectable JCV DNA, three of whom had never received natalizumab. In addition, JCV DNA was not detected in any of the 411 samples from MS patients naïve to treatment and patients with other neurological diseases. These results were confirmed using the manual extraction method. In addition, of the random subset of 209 patients tested by the manual method, an additional five (2.4%) samples had detectable JCV DNA. None of the patients with detectable JCV DNA in their plasma by either method had clinical features or MRI findings suggestive of PML.

[067] Serum samples were available from the three patients with confirmed PML obtained both before and after diagnosis. Only one patient, the patient with Crohn's Disease, had detectable JCV DNA in the serum prior to the onset of his symptoms. The other two patients had no detectable JCV DNA despite being clinically symptomatic for the disease and manifesting changes on a brain MRI scan. The observations in these groups of patients are consistent with the data from the literature demonstrating that the mere presence of JCV DNA in plasma is neither predictive nor diagnostic of PML.

[068] In summary, the comprehensive safety assessment performed following the identification of PML in natalizumab-treated patients uncovered no additional confirmed cases of PML in the over 3,000 patients examined. Nearly all patients who had received natalizumab in recent MS, Crohn's Disease, and rheumatoid arthritis studies were accounted for during the assessments, making it unlikely that any cases of PML were missed. The occurrence of PML was limited to two MS cases and one Crohn's Disease case, as originally described. The incidence of PML in subjects treated with natalizumab in MS and Crohn's Disease clinical trials is therefore approximately 1/1,000 with a 95% confidence interval ranging from 0.2 to 2.8/1,000. Plasma testing proved to be neither predictive nor diagnostic of PML, consistent with the published literature (Kitamura et al., *J. Infect. Dis.* 161:1128-

1133 (1990); Tornatore et al., *Ann. Neurol.* 31:454-462 (1992); Dorries et al., *Virology* 198:59-70 (1994); Agostini et al., *J. Clin. Microbiol.* 34:159-164 (1996); Dubois et al., *AIDS* 10:353-358 (1996); Knowles et al., *J. Med. Virol.* 59:474-479 (1999); Dorries et al., *J. Neurovirol.* 9 (Suppl 1):81-87 (2003)). Clinical and MRI abnormalities were present in two of the three patients with PML before JCV DNA was detected in the plasma. In addition, JCV DNA was detected in plasma in several subjects in the study who had no clinical or radiographic signs of PML, including three who had never received natalizumab. These results suggest that establishing one static level of plasma JCV is not useful in predicting the likelihood of PML in asymptomatic patients. Physicians and patients should remain vigilant for signs and symptoms of PML and have a low threshold to suspend treatment and initiate appropriate diagnostic work-up (MRI, CSF analysis) in natalizumab-treated patients presenting with new neurological decline.

Consequences of Stopping Therapy

[069] The consequences of stopping natalizumab therapy were carefully evaluated in a Phase 2 study, which involved 213 patients randomized to receive six monthly infusions of placebo, 3 mg/kg natalizumab, or 6 mg/kg natalizumab. Patients were followed for seven months after the last infusion. During that time, relapses and other adverse events were recorded, and MRI scans were performed four months and seven months after the last dose of natalizumab. Comparisons were made between the placebo group and the two natalizumab dosing groups. As expected, the proportion of patients experiencing relapse, as well as the frequency of relapses, rose in the natalizumab group to levels comparable to those in the placebo group after the cessation of study drug. Moreover, there was a gradual rise in the proportion of active MRI scans in the natalizumab group to levels comparable to that of the placebo group after the cessation of therapy. Thus, the cessation of natalizumab treatment resulted in loss of efficacy, but there was no evidence of an increase in disease activity beyond that which would have been expected had there been no treatment with natalizumab, i.e., no rebound effect was observed. Therefore, MS patients who discontinue natalizumab therapy do not have an increased risk for marked increase in disease activity.

Drug Interactions

[070] In a placebo-controlled MS study, the administration of AVONEX[®] appeared to be associated with an increase in the serum concentrations of natalizumab in a small cohort on whom intensive pharmacokinetic sampling was performed. However, based upon a

comparison of the mean post-hoc parameter estimates from the population pharmacokinetic analysis, steady-state clearance and half-life values differed between patients concurrently taking AVONEX[®] and natalizumab monotherapy, but only by approximately 5%, and were not considered clinically significant. In addition, natalizumab was well tolerated when administered to 589 patients in combination with AVONEX[®] for up to 120 weeks. It is notable that the two reports of PML in the MS database occurred in patients receiving concomitant AVONEX[®]. Thus, the risk of PML with natalizumab treatment may be increased by concomitant treatment with interferon β , though this could have occurred in two patients on combination therapy due to chance alone ($p=0.23$).

[071] The safety of natalizumab in combination with glatiramer acetate was evaluated by administering natalizumab over six months to patients who continued to receive 20 mg of daily glatiramer acetate. There were no interactions between glatiramer acetate and natalizumab pharmacokinetics or its $\alpha 4$ -integrin receptor saturation. However, this study was of insufficient size or duration to establish the long-term safety or efficacy in this population.

Efficacy of Natalizumab

Multiple Sclerosis

[072] MS is a chronic disease of the brain and spinal cord. In temperate zones such as the United States, the incidence of MS is approximately 1 to 5/100,000 per year (US National MS Society; NMSS), with a US prevalence estimated at 350,000 to 400,000. It is a disease of young adults, primarily women, with disease onset typically occurring between the ages of 20 and 40. The first clinical manifestations of MS usually take the form of a clinically isolated syndrome affecting the optic nerve (optic neuritis), spinal cord (transverse myelitis), or brainstem/cerebellum (Runmarker and Anderson, *Brain* 116:117-134 (1993)). Estimates of the number of patients who eventually go on to develop MS vary widely, but, in the case of optic neuritis, the presence of MS-like lesions on MRI at the time of the attack indicates a greater than 80% chance of developing clinically definite MS within 10 years (O'Riordan et al., *Brain* 121:495-503 (1998); Sailer et al., *Neurology* 52:599-606 (1999)).

[073] Demyelination and nerve fiber transection is thought to occur when activated T lymphocytes cross the blood-brain barrier and initiate a series of events leading to activation of endothelial cells, recruitment of additional lymphocytes and monocytes, and release of pro-inflammatory cytokines. MS lesions typically consist of immune cells, demyelinated

axons, oligodendrocytes attempting remyelination, proliferating astrocytes, and varying degrees of axonal transection. Cytokines such as tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interferon gamma (IFN- γ) interact with immune cells, amplifying this process. The initiating event of the inflammatory cascade is unknown; however, adhesion and trans-endothelial migration of inflammatory cells from the bloodstream across the blood-brain barrier and into the central nervous system (CNS) is thought to be an early and critical step in this process.

[074] Emerging data demonstrate that irreversible axonal loss occurs early in the course of MS. Because transected axons fail to regenerate in the CNS, early effective treatment aimed at suppressing MS lesion formation is of paramount importance. As early as disease onset, axons are transected in lesions with active inflammation (Trapp et al., *N. Engl. J. Med.* 338:278-285 (1998); Bjartmar and Trapp, *Curr. Opin. Neurol.* 14:271-278 (2001); Ferguson et al., *Brain* 120 (Pt 3):393-399 (1997)). The degree of demyelination is related to the degree of inflammation and the exposure of demyelinated axons to the inflammatory environment, as well as non-inflammatory mediators (Trapp et al., *N. Engl. J. Med.*; 338:278-285 (1998); Kornek et al., *Am. J. Pathol.* 157:267-276 (2000); Bitsch et al., *Brain* 123:1174-1183 (2000)). There is also destruction of oligodendrocytes with impaired remyelination in demyelinating lesions (Peterson et al., *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 61:539-546 (2002); Chang et al., *J. Neurovirol.* 8:447-451 (2002)). The loss of oligodendrocytes leads to a reduction in the capacity to remyelinate and may result in the loss of trophic factors that support neurons and axons (Bjartmar et al., *J. Neurocytol.* 28:383-395 (1999)).

[075] The typical inflammatory lesions of MS can occur throughout the CNS, but certain sites seem particularly vulnerable, such as the optic nerve, brainstem, spinal cord, and periventricular regions of the cerebrum. It is the resulting loss of myelin and nerve fibers in these areas that leads to impaired neuronal conduction and symptoms such as weakness, sensory loss, visual loss, double vision, and imbalance. In relapsing remitting MS, these episodes of demyelination typically result in several weeks of neurological dysfunction followed by partial or full recovery. However, more severe attacks may result in permanent deficits. The recurrent attacks over time lead to accumulating physical disability and cognitive decline.

[076] A number of measures, including clinical measures, those based on MRI scans, and those based on quality of life, can be used to assess a product's efficacy in treating MS. The

Expanded Disability Status Scale (EDSS) is an extensively used tool for tracking the course of disability in MS. It classifies the most common MS-associated neurological impairments into disability levels ranging from 0 to 10, with each successive step describing a worsening of disease. In the lower range of the EDSS scale, disease progression is primarily defined by increasing levels of disability in specific functional systems measured during neurological examination. Scores of 1.0 through 3.5 describe mild to moderate disability in the functional systems. Higher scores, in the range of 4.0 and above indicate increasingly severe disability that affects ambulation, including the need for assistive devices such as a cane (an EDSS of 6.0), a walker (an EDSS of 6.5), or a wheelchair (an EDSS of 7.0). Scores higher than 7.0 classify patients confined to bed.

[077] The MS Functional Composite (MSFC) (Whitaker et al., *Multiple Sclerosis* 1:37-47 (1995)) is also used to assess efficacy. Unlike traditional MS clinical outcome measures that are derived from the standard neurological examination, the MSFC is based on quantitative tests of leg function/ambulation (the Timed 25-Foot Walk), arm function (the Nine-Hole Peg Test), and cognitive function (the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT 3)) which expand upon the measurements of the EDSS and assess effects in clinical dimensions not well captured by this scale.

[078] MRI is another tool for assessing efficacy in treating MS and can be used alone or to support clinical data to assess therapeutic effects on relapse and disability endpoints. MRI is a sensitive tool for monitoring disease activity, detecting approximately five to ten times more disease activity in both relapsing remitting MS and secondary progressive MS patients than is clinically apparent (Isaac et al., *Neurology* 38:1511-1515 (1988); Willoughby et al., *Ann. Neurol.* 25:43-44 (1989); Khoury et al., *Neurology* 44:2120-2124 (1994); Thompson et al., *Ann. Neurol.* 9:53-62 (1991); Thompson et al., *Neurology* 42:60-63 (1992)). T2-weighted sequences in MS patients detect new areas of acute demyelination, as well as more chronic areas of demyelination and gliosis. For this reason, T2-weighted MRI is a good technique for monitoring the accumulation of lesions over time, either as a count of active lesions or a change in the total volume of such lesions.

[079] Infusion of gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid (Gd-DPTA) during acquisition of T1-weighted sequences allows for visualization of blood-brain barrier breakdown secondary to the inflammation characteristic of acute MS lesions. The evidence to date suggests that gadolinium (Gd)-enhancement is a useful marker of disease activity

that correlates with clinical relapse (Molyneux et al., *Ann. Neurol.* 43:332-339 (1998); Kappos et al., *Lancet* 353:964-969 (1999); McFarland et al., *Multiple Sclerosis* 8:40-51 (2002)).

[080] New hypointense lesions on T1-weighted sequences in MS patients correspond either with inflammatory Gd-enhancing lesions (comprising edema, demyelination, axonal loss, or combinations of these pathologies) (Bruck et al., *Ann. Neurol.* 42:783-793 (1997)) or as chronic lesions with considerable axonal loss. Approximately half of the acute T1 hypointensities on MRI will evolve into chronic "T1 black holes," which correlate with disability progression (Simon et al., *Neurology* 55:185-192 (2000)).

[081] As described in more detail in Example 1, two Phase 3 studies were conducted to study the effect of two years of treatment with natalizumab. One of the studies used natalizumab alone (the monotherapy study) and the other used natalizumab in combination with AVONEX® (the add-on therapy study). Both these Phase 3 studies were designed with two sets of primary and secondary endpoints. The primary and secondary endpoints were selected to measure the effects of natalizumab on the inflammatory aspects of the disease after a mean of one year of follow-up in each study (900 patient-years of observation in the monotherapy study; 1,200 patient-years in the add-on therapy study).

[082] The primary endpoint of these studies was the annualized rate of clinical relapses. Two of the secondary endpoints were two supporting MRI measures of inflammatory disease activity, namely, the mean number of new or newly enlarging T2-hyperintense lesions (measuring lesion accumulation over time) and the mean number of Gd-enhancing lesions (measuring acute disease activity), as ranked in order of importance. The proportion of patients remaining relapse-free provided a third secondary endpoint.

[083] Another series of endpoints was assessed at the conclusion of each study following two years of natalizumab treatment. The endpoints for this final analysis were selected to determine natalizumab's effects on measures associated with MS disease progression. The primary endpoint at two years was the time until onset of sustained progression of disability, as measured by changes in EDSS scores. Similar to the one-year analysis, the secondary endpoints were additional MRI and clinical measures that would support the primary analysis. The secondary endpoints at two years, ranked in order of importance, were the rate of MS relapses (to confirm one-year relapse observations), the mean volume of T2-hyperintense lesions (a measure of overall MS disease burden), the mean number of

T1-hypointense lesions (a measure of axonal loss), and progression of disability as determined by changes in the MSFC (to confirm and expand upon disability effects as measured by the EDSS).

[084] Given two primary endpoints at two different time points (annualized relapse rate at one year, time to disability progression at two years), the Hochberg procedure for multiple comparisons (Hochberg, *Biometrika* 75:800-802 (1988)) was used to evaluate the primary endpoint. Each set of secondary endpoints was prioritized in order of importance as listed above. A closed testing procedure was used for each set, such that if statistical significance was not achieved for an endpoint within a set, all endpoints(s) of a lower rank in that set were not considered statistically significant. Analyses of tertiary endpoints did not include adjustments for multiple comparisons.

Monotherapy with Natalizumab

[085] These results of the monotherapy study indicated that natalizumab is an effective treatment as monotherapy for relapsing remitting MS. Natalizumab treatment resulted in significant effects on relapse rates, disability progression, and all MRI measures, the primary and secondary endpoints of the study. Analysis of Kaplan-Meier curves indicate that the impact on relapse rates and disability progression was apparent early after treatment initiation, and was sustained throughout the treatment period with patient groups continuing to diverge at the final timepoint. Further, these findings were consistent across subgroups. Additional positive effects were seen on measures of relapse severity and quality of life.

[086] MS patients treated with natalizumab alone had a 42% lower risk of their disability progressing compared to placebo, as measured by changes on the EDSS, the primary endpoint of the study at two years ($p < 0.001$). The percentage of patients estimated to progress was 17% and 29% with natalizumab and placebo, respectively. In addition to the EDSS, natalizumab had significant effects on all relapse endpoints studied over two years, including a 68% reduction in the annualized relapse rate compared to placebo, with 67% of natalizumab-treated patients remaining relapse-free, compared to 41% of patients on placebo. The MRI scans supported these clinically-observed effects. Also, natalizumab treatment improved the patients' quality of life, as measured by the physical and mental components of the SF-36. All these effects were consistent and significant across subgroups defined by baseline demographics and disease activity.

Combination Therapy of Natalizumab and AVONEX®

[087] A significant number of patients who receive the currently approved therapies continue to experience disease activity, as measured both clinically and by MRI. This is an expected outcome of these partially effective approved medications, each of which leads to an approximately 30% reduction in relapse rate (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998); Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Data from the Phase 3 trials of β -interferon for the treatment of MS show that 62% to 75% of patients experienced at least one relapse during these two-year trials despite interferon treatment (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998)). Similarly, 66% of subjects in the Phase 3 MS trial of glatiramer acetate experienced at least one relapse during the 2-year period, a number that was not significantly different from placebo (Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Although a variety of therapeutic strategies are currently in use in clinical practice to manage breakthrough disease while on treatment (e.g., switching therapy, changing dose and frequency of interferon, combination therapy), these practices are largely empirical as there are no randomized, controlled trials to assess the efficacy of these approaches.

[088] The add-on therapy study was designed to evaluate the efficacy of natalizumab against active control for patients breaking through AVONEX® monotherapy. The choice of β -interferon was supported by available data on the proposed mechanisms of action of the available drugs. As discussed above, natalizumab has a well-defined mechanism of action, specifically targeting cellular adhesion and trans-endothelial migration via α 4-integrins. Although the exact mechanism by which interferon- β exerts efficacy in MS is not known, interferon- β induces a large number of cellular processes involved in cytokine secretion and cellular phenotype changes. Interferon- β down regulates interferon- γ induced MHC class II molecule production, decreases secretion of TH1 pro-inflammatory cytokines (TNF- α , IL-2 and interferon- γ) and increases secretion of TH2 anti-inflammatory cytokines (IL-4 and IL-10) (Rep et al., *J. Neuroimmunol.* 67:111-118 (1996); Kozovska et al., *Neurology* 53:1692-1697 (1999); Rudick et al., *Neurology* 50:1266-1272 (1998)). In addition, interferon- β may affect leukocyte trafficking through suppression of the chemokines RANTES and MIP-1 α , as well as their receptor CCR5 (Zang et al., *J.*

Neuroimmunol. 112:174-180 (2001)). There is, therefore, scientific rationale to expect that the blockade of $\alpha 4$ -integrins by natalizumab, when added to interferon- β , may have an additive or synergistic effect when added to interferon- β alone.

[089] Natalizumab was also proven efficacious when used to treat patients concurrently receiving treatment with AVONEX[®]. Prior to receiving natalizumab, these patients were experiencing disease activity despite active treatment. Thus, AVONEX[®] served as an active control. The study demonstrated that natalizumab, when added to AVONEX[®], resulted in a 24% reduction in the risk of disability progression, as measured by changes on the EDSS ($p=0.024$). The percentage of patients estimated to progress was 23% with natalizumab plus AVONEX[®] as compared with 29% on AVONEX[®] alone.

[090] Natalizumab had significant effects on all relapse endpoints examined, when compared to AVONEX[®] over two years, including a 55% reduction in the annualized relapse rate, with 54% of natalizumab-treated patients relapse-free compared to 32% of patients on AVONEX[®]. The MRI scans supported these clinically-observed effects. Also, natalizumab, when compared to AVONEX[®] therapy alone, improved the patients' quality of life, as measured by the physical components of the SF-36, with a trend on the mental component. All these effects were consistent and significant across subgroups defined by baseline demographics and disease activity.

Progressive Multifocal Leukoencephalopathy

[091] PML is an infectious disease of the central nervous system caused by JCV infection of oligodendrocytes. JCV is a human polyoma virus that is believed to infect the majority of healthy individuals at an early age. The seroprevalence of anti-JCV antibodies in healthy individuals has been estimated to range from 20% to 80% depending upon the testing methodology (Knowles et al., *J. Med. Virol.* 71:115-123 (2003)); Knowles and Sasnauskas, *J. Virol. Methods.* 109:47-54 (2003)).

[092] PML occurs predominantly in immunocompromised individuals with an age-adjusted death rate due to PML of 3.3 per million persons (in 1994), 89% of whom were AIDS patients (Holman et al., *Neuroepidemiol.* 17:303-309 (1998)). However, rare PML cases have also been reported in patients with autoimmune disorders who received immunosuppressive therapy; among these, three patients with rheumatoid arthritis (Sponzilli et al., *Neurology* 25:664-668 (1975); Rankin et al., *J. Rheumatol* 22:777-79 (1995); Durez et al., *Arthritis Rheum.* 46 (9S):536 (2002)), one of whom was treated with

tumor necrosis factor (TNF) antagonist (Durez et al., *Arthritis Rheum.* 46 (9S):536 (2002)). There was also a report of PML in a Crohn's Disease patient, but the concomitant treatments were not specified (Garrels et al., *Am. J. Neuroradiol.* 17:597-600 (1996)).

[093] The pathology of PML is distinctive and comprises multiple foci of demyelination of varying size from pinpoint lesions to areas of several centimeters. The lesions may occur anywhere but are usually in the cerebral hemispheres, less often in the cerebellum and brain stem and rarely in the spinal cord. The oligodendrocytes in the peripheral zone surrounding an area of demyelination are grossly abnormal. The nuclei of abnormal oligodendrocytes are packed with JC virions. Typically, PML evolves gradually, with impairment of mental function and disturbance of speech and vision. Movement may also be affected. The disease then progresses rapidly and the patient is severely disabled, eventually becoming demented, blind, and paralyzed; coma and death follow.

[094] The presence of JCV in the blood and urine of PML patients and healthy, immunocompetent individuals has been described (Kitamura et al., *J. Infect. Dis.* 161:1128-1133 (1990); Tornatore et al., *Ann. Neurol.* 31:454-462 (1992); Dorries et al., *Virology* 198:59-70 (1994); Sundsfjord et al., *J. Infect. Dis.* 169:485-490 (1994); Agostini et al., *J. Clin. Microbiol.* 34:159-164 (1996); Dubois et al., *AIDS* 10:353-358 (1996); Knowles et al., *J. Med. Virol.* 59:474-479 (1999); Dorries et al., *J. Neurovirol.* 9(Suppl 1):81-87 (2003)). These findings are neither predictive nor diagnostic of PML in these patients; thus the relationship of blood or urine viral load to PML is unclear.

[095] The clinical presentation of PML is largely dependent upon the size and distribution of the white matter lesions that develop as a result of viral infection, demyelination, and glial cell lysis. However, clinical features of the presentation help differentiate it from the demyelination associated with MS. In contrast to MS, PML involvement of the spinal cord or optic nerves is rare. Instead, about one-third of patients will present with visual field loss or cortical blindness with another third presenting with altered mentation or behavior changes (Dworkin et al., *Curr. Clin. Top. Infect. Dis.* 22:181-195 (2002)). Also unlike MS, hemiparesis is a common presenting symptom. These symptoms are typically subacute in onset and follow a slowly progressive course. Often, patients and their families are the first to notice the onset of PML through changes in the ability to perform routine activities of daily living, even prior to presentation with changes on neurological examination.

[096] MRI is a sensitive tool for the detection of PML lesions in the setting of clinical signs or symptoms, although it may lack specificity. Typical MS lesions, demyelination from other causes (e.g., encephalomyelitis, HIV encephalopathy), gliosis, and edema can often have an appearance similar to early PML lesions. However, as shown in Table 1, there are features of PML lesions that help differentiate them from other etiologies (Post et al., *Am. J. Neuroradiol.* 20:1896-1906 (1999); Yousry et al. *N. Engl. J. Med.* in press (2006); (Berger et al., *Ann. Neurol.* 44:341-349 (1998); Hoffmann et al., *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 74:1142-1144 (2003); Langer-Gould et al., *N. Engl. J. Med.* 353:375-381 (2005)).

Table 2. Differential Diagnosis of MS and PML

	MS	PML
Location of new lesions	Mostly focal, may affect entire brain and spinal cord, in white and possibly gray matter; Posterior fossa lesions rarely seen	Diffuse, mainly sub-cortical, rarely periventricular, almost exclusively in white matter, although occasional extension to gray matter seen; Posterior fossa frequently involved (cerebellum)
Borders	Sharp edges, shapes mostly round or finger-like (especially periventricular), confluent with other single lesions, U-fibers may be involved	Ill-defined edges, infiltrating, irregular in shape, confined to white matter, sparing gray matter, pushing against cortex, U-fibers destroyed
Mode of extension	Focal, enlarging of lesions within days/weeks, later decreasing in size within months	Diffuse, asymmetrical, extending homogeneously, no confluence with other lesions, defined to white matter tracks, sparing cortex, continuous progression
Mass effect	Acute lesions may show some mass effect	No mass effect even in large lesions (but process is slightly pushing against cortex)
T2-weighted sequence	Acute lesions: hyperintense center, isointense ring, discrete hyperintensity	Diffuse hyperintense, slightly increased intensity of newly involved areas

	outside ring structure; Sub-acute/chronic lesions: hyperintense, no ring structure	compared to old areas, little irregular signal intensity of lesions
T1-weighted sequence	Acute lesions: densely hypointense (large lesion) or isointense (small lesion), increasing signal intensity over time in 80%, decreasing signal intensity (axonal loss) in about 20%	Slightly hypointense from the onset, signal intensity decreasing over time and along the affected area, no reversion of signal intensity
Flair sequence	Hyperintense, sharply delineated	Hyperintensity more obvious, true extension of abnormality more clearly visible than in T2-weighted images
Enhancement	Acute lesions: dense homogeneous enhancement, sharp edges Sub-acute lesions: ring-enhancement Chronic lesions: no enhancement	Usually no enhancement even in large lesions, in HIV+ patients some peripheral enhancement possible, especially under therapy
Atrophy	Focal atrophy possible due to focal white matter degeneration, no progression	No focal atrophy since extending pathological process is slightly pushing against cortex (extension of tissue)

[097] MRI analysis can provide a differential diagnosis of MS and PML in patients receiving natalizumab. Patients suspected of PML demonstrate the presence of multifocal, asymmetric, white-matter lesions reflective of demyelination by MRI. T₂-weighted and fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) MRI reveals hyperintense lesions throughout the supratentorial subcortical white matter (Post et al., *Am. J. Neuroradiol.* 20:1896-1906 (1999)). White matter lesions of PML are typically not surrounded by edema, do not produce a mass effect, and do not enhance in the presence of gadolinium contrast material (Post et al., *Am. J. Neuroradiol.* 20:1896-1906 (1999)). However, hyperintense T₂-weighted and FLAIR images are not specific for demyelination and may represent gliosis or edema. Other demyelinating, encephalopathic or ischemic processes such as MS, postviral encephalitis, HIV encephalopathy and infarction, may demonstrate similar non-specific imaging features (Olsen et al., *Radiology* 169:445-448 (1988), Hurley et al., J.

Neuropsychiatry Clin. Neurosci. 15:1-6 (2003)). The location of lesions and their morphological characteristics, the absence or an atypical presence of gadolinium enhancement on T₁-weighted images, and the implementation of magnetization transfer MRI may also help differentiate the demyelination of PML from other demyelinating processes, edema or gliosis (Ernst et al., *Radiology* 210:439-543 (1999); Hurley et al., *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 15:1-6 (2003)).

[098] The clinical diagnosis of PML is confirmed by histological and virological examination of brain material obtained by brain biopsy or at postmortem. Before a biopsy is done, both serum and CSF should be examined for antibodies against JCV. A positive result will not confirm PML, but a negative result makes the diagnosis of PML very unlikely. It is rare to detect antibodies against JC in the CSF, and when they are detected, it is suggestive of active multiplication of JCV within the CNS. The brain biopsy or autopsy material can be examined by electron microscopy or immunohistologic electron microscopy. The specimen can also be examined directly for JCV antigen by immunofluorescence or immunoperoxidase staining. Viral isolation of JCV has been reported to be difficult, but may be attempted from primary human fetal glial cells. The presence of the virus in culture is confirmed by electron microscopy, immunofluorescence, or haemagglutination.

[099] PCR analysis of the CSF for JC viral DNA is a highly sensitive and specific test for the diagnosis of PML. The specificity of this test approaches 100%, with a sensitivity ranging from 60% to 90% (Henson et al., *Neurology* 41:1967-1971 (1991); Gibson et al., *J. Med. Virol.* 39:278-281 (1993); Weber et al., *AIDS* 8:49-57 (1994a); Weber et al. *J. Infect. Dis.* 169:1138-1141 (1994b); Vago et al., *J. Acquir. Imm. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 12:139-146 (1996)). In cases with a high clinical suspicion of PML and negative CSF results, repeat testing often leads to detection of JC viral DNA. As such, PCR analysis of the CSF for JC viral DNA has grown to be the preferred method to confirm the diagnosis of PML.

[0100] Untreated, PML patients have a mortality rate of 30% to 50% during the first three months (Koralnik, *Curr. Opt. Neurol.* 17:365-370 (2004)). Prior to the introduction of highly active antiretroviral treatment (HAART) for HIV, about 10% of patients with PML survived for longer than one year. However, since the advent of HAART, about 50% of patients with PML survive for longer than one year due to restoration of immune function as

CD4 counts increased as a result of immune reconstitution inflammatory syndrome (Geschwind et al., *J. Neurovirol.* 7:353-357 (2001); Berger et al., *Ann. Neurol.* 44:341-349 (1998); Clifford et al., *Neurology* 52:623-625 (1999); Tantisiriwat et al., *Clin. Infect. Dis.* 28:1152-1154 (1999)).

[0101] Currently, there is no established drug treatment for PML. Various medications have been tested, including acyclovir, idoxuridine, vidarabine, amantadine, adenine arabinoside, cytosine arabinoside (cytarabine), cidofovir, interferon α , interleukin-2 (IL-2), zidovudine, camptothecin, and topotecan (Koralnik, *Curr. Opt. Neurol.* 17:365-370 (2004); Dworkin et al., *Curr. Clin. Top. Infect. Dis.* 22:181-195 (2002); Seth et al., *J. Neurovirol.* 9:236-246 (2003); Collazos, *CNS Drugs* 17:869-887 (2003); Mamidi et al., *J. Neurovirol.* 8:158-167 (2002); Przepiorka et al., *Bone Marrow Transplant*; 20:983-987 (1997); Redington et al., *Arch. Neurol.* 59:712-718 (2002); Padgett et al., *Prog. Clin. Biol. Res.* 105:107-117 (1983)). However, the survival of patients with PML appears to be best correlated with immune reconstitution. In transplant patients with PML, early dosage reduction or/and discontinuation of immunosuppressive therapy was associated with favorable clinical outcome after PML diagnosis (Crowder et al., *Am. J. Transplant* 5:1151-1158 (2005); Shitrit et al., *Transpl. Int.* 17:658-665 (2005)).

JC Virus (JCV)

[0102] JCV is a member of the class of human polyomavirus, which belong to the Papovaviridae family of small, nonenveloped viruses with a closed, circular double DNA-stranded genome. Polyomaviruses can be distinguished from papillomaviruses by virtue of their smaller virion size and different genomic size and organization. Polyomaviruses are ubiquitous in nature and can be isolated from a number of species. JCV was first isolated from the brain tissue of a patient with progressive multifocal leukoencephalopathy (PML). JCV shares 75% nucleotide sequence homology with the BK human polyomavirus (BKV), which was isolated from the urine of a renal transplant patient with postoperative ureteral stenosis. BKV and JCV each share 70% homology with SV40. The two are not serologically cross-reactive and serologic tests for antibodies are able to distinguish between BKV and JCV (Demeter, in Mandell et al., eds., *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406).

[0103] JCV infection is usually sub-clinical, is almost universal, occurs in childhood, and persists for life. It is estimated that 60-80% of adults in Europe and the United States have antibodies to JCV and that 50% of young adults in the age range of 30-39 years have been infected with JCV. JCV and BKV are believed to circulate independently. It has been proposed that JCV establishes latent infections in the kidney and/or the CNS after a primary infection (Demeter, in Mandell et al., eds., Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406). During immunosuppression, it has been postulated that latent JCV is reactivated in the kidney, which may lead to viruria. While viruria may have some predictive value for PML, since it does not occur in the majority of PML cases, measuring JCV in the urine alone is not sufficient to diagnose JCV.

[0104] When JCV travels through the bloodstream to the brain, it may attack myelin-producing cells. The resulting brain infection produces neurological symptoms which may include ataxia, loss of cognitive function, visual loss, changes in balance and coordination, and loss of sensation. Death commonly occurs within two years following diagnosis.

[0105] No specific antiviral therapy that has been proven effective for JCV, and current treatment of immunocompromised patients is primarily supportive and intended to reduce immunosuppression. Cidofovir is currently being studied as a treatment option for transplant patients, and cytarabine can be used in the treatment of PML, although there is currently conflicting data regarding the efficacy of the latter (Demeter, in Mandell et al., eds., Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406; Salmaggi, *Neurol. Sci.* 22:17-20 (2001)).

[0106] The cellular receptor for JCV has been reported to be the serotonin 5HT₂(A) receptor (Elphick et al., *Science* 306:1380-1383 (2004)). *In vitro*, the antipsychotic medications chlorpromazine and clozapine were shown to block the serotonin 5HT₂(A) receptor and to block JCV cell entry. Unfortunately, however, chlorpromazine and clozapine have such significant side effects and toxicities, e.g., extrapyramidal symptoms and the possibility of bone marrow dyscrasias that they may be problematic to use clinically. The invention provides that newer atypical antipsychotics, such as ziprasidone, risperidone, and olanzapine - medicines with much better side effect and toxicity profiles

than the older antipsychotics -are significantly more potent 5HT₂(A) receptor antagonists *in vitro* than chlorpromazine and clozapine.

[0107] A wide variety of serological tests are available to detect JCV, e.g., complement-fixation (CFT), haemagglutination-inhibition (HAI), enzyme-linked immunoassay (EIA), radioimmunoassay (RIA), particle agglutination, immunofluorescence (IF), single radial hemolysis, and Western blot. The sensitivity and specificity varies greatly between different techniques. Most techniques will detect all classes of antibody, whereas some assays e.g., RIA, EIA, and IF can be designed to detect one specific class, for example, IgM, IgG, or IgA.

Patient Selection Based on Safety and Efficacy

[0108] Appropriate patient selection helps maximize the benefit-risk profile of natalizumab. Natalizumab has demonstrated efficacy in treatment-naïve patients with mild to moderate disability (EDSS 0 to 5.0) with recent clinical disease activity (for example, one relapse in the year prior to study entry). It has also demonstrated efficacy in patients with mild to moderate disability with continuing disease activity despite treatment with β -interferon (for example, one relapse in the year prior to study entry, while receiving AVONEX[®]).

[0109] The benefit/risk ratio is altered in certain other patient populations. Patients without evidence of relapsing disease, that is, without evidence of inflammatory activity clinically or by MRI, such as those with relatively "benign" inactive disease, or chronic-progressive forms of MS, were excluded from the Phase 3 trials, thus, natalizumab has not been completely evaluated in these cohorts. The benefit-risk is also altered in patients with a single clinical event without features suggestive of MS.

[0110] Patients who are clinically stable on current therapy also have an altered benefit/risk ratio. If safety or tolerability concerns exist on the current treatment, or imaging studies indicate active inflammatory sub-clinical disease, natalizumab treatment would be appropriate. In considering the benefit-risk ratio, it should be considered whether the patient has previously suffered a hypersensitivity reaction or developed persistent antibodies to natalizumab. Re-dosing of natalizumab following a hypersensitivity reaction was not assessed in Phase 3 trials. Persistent antibodies against natalizumab lead to a loss of efficacy and an increase in infusion-related side effects. Patients who are immunocompromised from any cause, including use of immunosuppressant medications

have an independent risk factor for PML and other opportunistic infections and should not receive natalizumab.

[0111] Another criteria for patient selection is a pre-infusion checklist used by the infusion nurse to facilitate early detection of PML and minimize inappropriate use of natalizumab. The checklist prompts the nurse to ask the patient about continuously worsening neurological symptoms that have persisted over several days, e.g., new or sudden decline in thinking, eyesight, balance, or strength. If a patient reports having any symptoms described by the checklist, the nurse is instructed not to administer natalizumab and to refer the patient to his or her physician.

[0112] This checklist also ascertains that the patient will be receiving natalizumab for the treatment of relapsing MS, has never been diagnosed with PML, and is not currently experiencing any continuously worsening symptoms that have persisted over several days. It further ascertains that the patient is not known to be suffering from HIV or a hematologic malignancy, nor has had an organ transplant. It confirms that the patient is not currently receiving treatment with an anti-neoplastic, immunomodulatory, or immunosuppressive agent and that the patient has read the natalizumab patient information leaflet.

[0113] Additional objects and advantages of the invention will be set forth in part in the description which follows, and in part will be obvious from the description, or may be learned by practice of the invention. The objects and advantages of the invention will be realized and attained by means of the elements and combinations particularly pointed out in the appended claims. Moreover, advantages described in the body of the specification, if not included in the claims, are not per se limitations to the claimed invention.

[0114] It is to be understood that both the foregoing general description and the following detailed description are exemplary and explanatory only and are not restrictive of the invention, as claimed. Moreover, it must be understood that the invention is not limited to the particular embodiments described, as such may, of course, vary. Further, the terminology used to describe particular embodiments is not intended to be limiting, since the scope of the present invention will be limited only by its claims. The claims do not encompass embodiments in the public domain.

[0115] With respect to ranges of values, the invention encompasses each intervening value between the upper and lower limits of the range to at least a tenth of the lower limit's unit, unless the context clearly indicates otherwise. Further, the invention encompasses any other

65

stated intervening values. Moreover, the invention also encompasses ranges excluding either or both of the upper and lower limits of the range, unless specifically excluded from the stated range.

[0116] Unless defined otherwise, the meanings of all technical and scientific terms used herein are those commonly understood by one of ordinary skill in the art to which this invention belongs. One of ordinary skill in the art will also appreciate that any methods and materials similar or equivalent to those described herein can also be used to practice or test the invention. The specification is most thoroughly understood in light of the references cited herein.

[0117] It must be noted that, as used herein and in the appended claims, the singular forms "a," "or," and "the" include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. Thus, for example, reference to "a subject polypeptide" includes a plurality of such polypeptides and reference to "the agent" includes reference to one or more agents and equivalents thereof known to those skilled in the art, and so forth.

[0118] Further, all numbers expressing quantities of ingredients, reaction conditions, % purity, polypeptide and polynucleotide lengths, and so forth, used in the specification and claims, are modified by the term "about," unless otherwise indicated. Accordingly, the numerical parameters set forth in the specification and claims are approximations that may vary depending upon the desired properties of the present invention. At the very least, and not as an attempt to limit the application of the doctrine of equivalents to the scope of the claims, each numerical parameter should at least be construed in light of the number of reported significant digits, applying ordinary rounding techniques. Nonetheless, the numerical values set forth in the specific examples are reported as precisely as possible. Any numerical value, however, inherently contains certain errors from the standard deviation of its experimental measurement.

Examples

[0119] The examples, which are intended to be purely exemplary of the invention and should therefore not be considered to limit the invention in any way, also describe and detail aspects and embodiments of the invention discussed above. The examples are not intended to represent that the experiments below are all or the only experiments performed. Efforts have been made to ensure accuracy with respect to numbers used (for example, amounts, temperature, etc.) but some experimental errors and deviations should be accounted for.

Unless indicated otherwise, parts are parts by weight, molecular weight is weight average molecular weight, temperature is in degrees Centigrade, and pressure is at or near atmospheric.

Example 1: Efficacy of Natalizumab

[0120] The efficacy of natalizumab over a two year period has been demonstrated in two Phase 3 trials (Polman et al., *N. Engl. J. Med.* in press (2006); Rudick et al. *N. Engl. J. Med.* in press (2006)). In one study, natalizumab was given as monotherapy to treatment-naïve MS patients and its efficacy was compared to placebo. In the other study, natalizumab was given to patients who were experiencing relapses despite concurrent AVONEX[®] therapy and its efficacy was compared to that of AVONEX (interferon β -1a) plus placebo. Data through two years have confirmed the benefit that led to accelerated approval at one year. These data show that natalizumab is highly efficacious in delaying the time to onset of sustained progression of disability, in reducing annualized relapse rate, in attenuating MRI lesions, and in improving the quality of life of patients compared both to placebo and the active AVONEX[®] control group.

[0121] Both Phase 3 studies had similar designs. In the monotherapy study, 942 untreated relapsing remitting MS patients were randomized to receive natalizumab or placebo for 120 weeks (30 infusions) using a 2:1 allocation. In the add-on study, 1,171 patients who had been receiving weekly intramuscular injections of 30 μ g AVONEX[®], but who had relapsed despite this treatment, were randomized using a 1:1 allocation to add natalizumab or placebo to their regimen, also for 120 weeks.

[0122] Efficacy parameters included EDSS scores, MS relapses, brain MRI scans, MSFC scores, visual function tests, and quality of life. EDSS and MSFC were measured every 12 weeks, brain MRI scans and quality of life questionnaires at baseline and every year, and MS relapses on an ongoing basis.

[0123] Treatment with natalizumab as monotherapy in treatment-naïve patients had profound effects on the time to onset of sustained progression in disability and on annualized relapse rate, the two primary endpoints, as shown in Table 2. These significant effects were confirmed *versus* AVONEX[®] alone.

Table 2. Efficacy of Natalizumab in Phase 3 Studies

	Monotherapy		Add-on therapy	
	Placebo	300 mg natalizumab	AVONEX + placebo	AVONEX + 300 mg natalizumab
Number of patients	315	627	582	589
Percentage of patients with sustained progression of disability	29%	17%	29%	23%
Hazard ratio (95% confidence interval)	0.58 (0.43, 0.77)		0.76 (0.61, 0.96)	
Risk reduction	42%		24%	
p-value	p<0.001		p=0.024	
Annualized relapse rate	0.733	0.235	0.749	0.336
Relative reduction	68%		55%	
p-value	p<0.001		p<0.001	

[0124] The patient population in the two Phase 3 studies were relapsing MS patients according to the criteria of the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis (McDonald et al., *Ann. Neurol.* 50:121-127 (2001)). It encompassed a broad range of ages and disease severity, and represented the current relapsing MS population with active disease, consistent with the approved indication. Patients with primary- or secondary- progressive MS were excluded.

[0125] The patient populations targeted for the two studies differed. Patients in the monotherapy study were essentially naïve to treatment with an immunomodulatory drug for MS. Specifically, patients may not have had treatment with any immunomodulator (β -interferon or glatiramer acetate) for a period longer than six months and not within six months of the beginning of the study. The result was a young, mostly female, MS population with a moderate degree of baseline disease activity (typical of the general MS population), very few of whom had tried another immunomodulator prior to study entry.

[0126] Patients in the add-on therapy study were required to have received AVONEX® for the previous year and to have had a relapse during that time while on AVONEX® treatment. This resulted in a population somewhat older than that in the monotherapy study,

with a longer disease duration. However, patients in the add-on therapy study had a similar degree of disease activity as those in the monotherapy study, despite AVONEX® treatment.

CLAIMS

1. A method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab comprising:
 - (a) administering a dose of natalizumab for a first dosage period;
 - (b) monitoring the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during the first dosage period;
 - (c) determining a second dose of natalizumab based on the level of bivalent natalizumab observed; and
 - (d) administering a second dose of natalizumab for a second dosage period;wherein the second dose improves the safety and/or efficacy of the treatment during the second dosage period.
2. The method of claim 1, wherein if the monitoring shows that the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum remains above a predetermined level during the first dosage period, and wherein the corrected dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to achieve a reduction of the natalizumab level during the second dosage period to below the predetermined level during at least a portion of the second dosage period.
3. The method of claim 2, wherein the second dose is lower than the first dose.
4. The method of claim 2, wherein the second dosage period is longer than the first dosage period.
5. The method of claim 2, wherein the corrected dose is lower than the first dose, and wherein the second dosage period is longer than the first dosage period.
6. The method of claim 2, wherein the first dose is 300 mg administered by IV infusion and the first dosage period is four weeks.
7. The method of claim 6, wherein the predetermined level is about 1 $\mu\text{g/ml}$, and wherein the second dose is less than 300 mg administered by IV infusion and the second dosage period is more than four weeks.
8. The method of claim 6, wherein the predetermined level is about 0.5 $\mu\text{g/ml}$, and wherein the second dose is less than 300 mg administered by IV infusion and the second dosage period is more than four weeks.

9. The method of claim 6, wherein the predetermined level is about 0.1 µg/ml, and wherein the second dose is less than 300 mg administered by IV infusion and the second dosage period is more than four weeks.
10. The method of claim 1, wherein the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum falls below a predetermined level during the first dosage period within a predetermined time after administration of the first dose, and wherein the second dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to maintain the natalizumab level above the predetermined level.
11. The method of claim 1, wherein the disease is multiple sclerosis.
12. The method of claim 1, wherein the disease is inflammatory bowel disease or rheumatoid arthritis.
13. The method of claim 1, further comprising monitoring the patient for indicators of serious infection and/or treating the patient with prophylaxis designed to reduce the risk of developing serious infection.
14. The method of claim 1, further comprising monitoring the patient for indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy.
15. The method of claim 14, wherein the monitoring detects JCV in the patient's urine, blood, and/or cerebrospinal fluid.
16. The method of claim 14, wherein the monitoring comprises testing for clinical and/or radiologic symptoms of progressive multifocal leukoencephalopathy.
17. The method of claim 14, further comprising, in the presence of indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy, providing at least one treatment selected from intravenous immunoglobulin therapy, plasmapheresis, and antiviral therapy.
18. The method of claim 14, wherein the patient is not treated simultaneously with natalizumab and an immunosuppressive or antineoplastic agent.
19. A method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab comprising:
- (a) determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum;
 - (b) determining a dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum; and
 - (c) administering the dose of natalizumab to the patient over the dosage period;

wherein the dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment compared to the safety and/or efficacy provided by the standard dose and dosage period of natalizumab.

20. The method of claim 19, wherein the standard dose is 300 mg by IV infusion and the standard dosage period is every four weeks.

21. The method of claim 20, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 µg/ml and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion.

22. The method of claim 20, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 µg/ml and the determined dosage period is longer than four weeks.

23. The method of 20, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 µg/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks.

24. The method of claim 20, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 µg/ml and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion.

25. The method of claim 20, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 µg/ml and the determined dosage period is longer than four weeks.

26. The method of claim 20, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 µg/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks.

27. The method of claim 19, wherein the disease is multiple sclerosis.

28. The method of claim 19, wherein the disease is inflammatory bowel disease or rheumatoid arthritis.

29. The method of claim 19, further comprising monitoring the patient for indicators of serious infection and/or treating the patient with prophylaxis designed to reduce the risk of developing serious infection.

30. The method of claim 19, further comprising monitoring the patient for indications of progressive multifocal leukoencephalopathy.

31. The method of claim 30, wherein the monitoring detects JCV in the patient's urine, blood, and/or cerebrospinal fluid.

32. The method of claim 30, wherein the monitoring comprises testing for clinical and/or radiologic symptoms of progressive multifocal leukoencephalopathy.

33. The method of claim 30, further comprising, in the presence of indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy, providing at least one treatment selected from intravenous immunoglobulin therapy, plasmapheresis, and antiviral therapy.

34. The method of claim 30, wherein the patient is not treated simultaneously with natalizumab and an immunosuppressive or antineoplastic agent.

35. A method of using natalizumab to treat a patient with an inflammatory or autoimmune disease comprising:

- (a) determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum;
- (b) administering a dose of natalizumab for a first dosage period;
- (c) monitoring the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during the first dosage period;
- (d) determining a second dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum and on the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum; and
- (e) administering the second dose of natalizumab for the second dosage period;

wherein the second dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment.

36. The method of claim 35, wherein if the monitoring shows that the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum remains above a predetermined level during the first dosage period, and wherein the second dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to achieve a reduction of the natalizumab level during the second dosage period to below the predetermined level during at least a portion of the second dosage period.

37. The method of claim 36, wherein the first dose of natalizumab is 300 mg administered by IV infusion for a first dosage period of four weeks.

38. The method of claim 37, wherein the predetermined level is about 1 µg/ml.

39. The method of claim 37, wherein the predetermined level is about 0.5 µg/ml.

40. The method of claim 37, wherein the predetermined level is about 0.1 µg/ml.

41. The method of claim 37, wherein the corrected dose is lower than the first dose, or the second dosage period is longer than the first dosage period, or the corrected dose is lower than the first dose and the second dosage period is longer than the first dosage period.

42. The method of claim 35, wherein the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum falls below a predetermined level during the first dosage period within a predetermined time after administration of the first dose, and wherein the second dose of natalizumab administered over the second dosage period is designed to maintain the natalizumab level above the predetermined level at least up to the predetermined time after administration of the second dose during the second dosage period.
43. The method of claim 36, further comprising monitoring the patient for indicators of serious infection.
44. The method of claim 43, wherein the serious infection is progressive multifocal leukoencephalopathy.
45. The method of claim 36, further comprising treating the patient with prophylaxis designed to reduce the risk of developing serious infection.
46. The method of claim 45, wherein the serious infection is progressive multifocal leukoencephalopathy.
47. The method of claim 37, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 μ g/ml and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion.
48. The method of claim 37, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 μ g/ml and the determined dosage period is longer than four weeks.
49. The method of claim 37, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 200 μ g/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks.
50. The method of claim 37, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 μ g/ml and the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion.
51. The method of claim 37, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 μ g/ml and the determined dosage period is longer than four weeks.
52. The method of claim 37, wherein the amount of IgG4 in the patient's blood is below 100 μ g/ml, the determined dose of natalizumab is below 300 mg by IV infusion, and the determined dosage period is longer than four weeks.
53. The method of claim 37, wherein the standard dose of natalizumab is 300 mg IV infusion and the standard dosage period is four weeks.
54. A method of using natalizumab to treat a patient with an inflammatory or autoimmune disease comprising:

83

- (a) determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum prior to initiating treatment;
- (b) initiating treatment of the patient with natalizumab in the event the amount of IgG4 in the patients plasma or serum is above a predefined threshold; and
- (c) initiating treatment of the patient with natalizumab with increased monitoring for indicators of progressive multifocal leukoencephalopathy and/or opportunistic infections in the event the amount of IgG4 in the patients plasma or serum is at or below a predefined threshold;

wherein determining of the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum improves the safety and/or efficacy of the treatment.

55. The method of claim 54, wherein in the event the amount of IgG4 in the patients plasma or serum is at or below a second predefined threshold, treatment is not initiated.

56. The method of claim 54, wherein treatment is initiated if the amount of IgG4 in the patient's blood is about 200 µg/ml or higher.

57. The method of claim 54, wherein treatment is initiated if the amount of IgG4 in the patient's blood is about 100 µg/ml or higher.

58. The method of claim 54, further comprising

- (d) determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum during treatment; and
- (e) terminating treatment in the event the amount of IgG4 in the patients plasma or serum is below a predefined threshold.

59. The method of claim 54, further comprising

- (d) monitoring the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during treatment; and
- (e) terminating treatment in the event the amount of bivalent natalizumab is above a predefined threshold.

60. The method of claim 58, further comprising

- (f) monitoring the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during treatment; and
- (g) terminating treatment in the event the amount of bivalent natalizumab is above a predefined threshold.

61. A method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab comprising:

- (a) administering a dose of natalizumab for a first dosage period;
- (b) monitoring the amount of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during the first dosage period;
- (c) determining a second dose of natalizumab based on the level of bivalent natalizumab observed;
- (d) administering a second dose of natalizumab for a second dosage period; and
- (e) administering the second dose of natalizumab for one or more subsequent second dosage periods;

wherein the second dose improves the safety and/or efficacy of the treatment during the second dosage period.

62. A method of treating a patient with an inflammatory or autoimmune disease with natalizumab comprising:

- (a) determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum;
- (b) determining a dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum;
- (c) administering the dose of natalizumab to the patient over the dosage period; and
- (d) administering the dose of natalizumab to the patient over one or more subsequent dosage periods;

wherein the dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment compared to the safety and/or efficacy provided by the standard dose and dosage period of natalizumab.

63. A method of using natalizumab to treat a patient with an inflammatory or autoimmune disease comprising:

- (a) determining the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum;
- (b) administering a dose of natalizumab for a first dosage period;
- (c) monitoring the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum during the first dosage period;

85

- (d) determining a second dose and dosage period of natalizumab based on the amount of IgG4 in the patient's plasma or serum and on the level of bivalent natalizumab in the patient's plasma or serum;
- (e) administering the second dose of natalizumab for the second dosage period; and
- (f) administering the second dose of natalizumab for one or more subsequent second dosage periods;

wherein the second dose and dosage period improve the safety and/or efficacy of the treatment.

**MÉTODOS PARA TRATAR ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y
AUTOINMUNES CON NATALIZUMAB**

REIVINDICACIÓN DE PRIORIDAD

[001] Esta solicitud reivindica prioridad de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos No. 60/779,190, presentada en marzo 3, 2006, cuyos contenidos completos se incorporan aquí como referencia.

CAMPO TÉCNICO

[002] La invención se relaciona con métodos para tratar enfermedades inflamatorias y auto-inmunes con un anticuerpo recombinante. Estos métodos mejoran la seguridad del tratamiento al ajustar la dosis basada en los anticuerpos IgG4 en el paciente.

TÉCNICA ANTERIOR

[003] La migración de los linfocitos provenientes de la sangre periférica a través de la barrera sangre cerebro se ha reportado por iniciar el desarrollo de varias enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central (SNC). La entrada del linfocito en el SNC es mediada por moléculas de adhesión celular (O'Neill et al., *Immunology* 72:520-525 (1991); Raine et al., *Lab. Invest.* 63:476-489 (1990); Yednock et al., *Nature* 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Steffen et al., *Am. J. Path.* 145:189-201 (1994); Christensen et al., *J. Immunol.* 154:5293-5301 (1995)).

[004] Las moléculas de adhesión celular presentes en la superficie celular media la unión directa de una célula a la otra (Long et al., *Exp. Hematol.* 20:288-301 (1992)). Las familias de la integrina y el supergen inmunoglobulina de las moléculas de adhesión regulan el tráfico del linfocito en el SNC (Hemler et al., *Annu. Rev. Immunol.* 8:365-400 (1990); Springer et al., *Cell* 76:301-314 (1994); Issekutz et al., *Curr. Opin. Immunol.* 4:287-293 (1992)). Las moléculas de adhesión se han reportado de manera amplia por mediar enfermedades inflamatorias y auto-inmunes, por ejemplo, asma, enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, demencia por SIDA, diabetes, enfermedad inflamatoria del intestino, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, rechazo por transplante de injerto, y metástasis tumoral.

[005] Las integrinas son heterodímeros de las cadenas α y β no covalentemente ligadas (Hemler et al., *Annu. Rev. Immunol.* 8:365-400 (1990)). Las integrinas $\alpha 4 \beta 1$ (también denominada antígeno 4 VLA-4 de activación muy tardía) y $\alpha 4 \beta 7$ están presentes en la superficie de la mayoría de los tipos de células sanguíneas blancas, donde ellas median la unión de la célula blanca a las células endoteliales al interactuar con sus receptores consanguíneos, la molécula 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1) y la molécula 1 de adhesión celular de adresina mucósica (MAdCAM-1), sobre la superficie celular endotelial. Se cree que las integrinas juegan un papel importante en la adhesión celular inmune a la capa celular endotelial sobre los vasos sanguíneos, facilitando su posterior migración a los tejidos inflamados. Varios estudios implican VLA-4 y, en particular la subunidad integrina $\alpha 4$, en la inflamación del SNC (Yednock et al., *Nature* 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Steffen et al., *Am. J. Path.* 145:189-201 (1994); Christensen et al., *J. Immunol.* 154:5293-5301 (1995). También se ha reportado que la expresión del VCAM-1 se eleva en un tejido del cerebro

inflamado con relación al tejido de cerebro normal (Cannella y Raine, *Ann. Neurol.* 37:424-435 (1995); Washington et al., *Ann. Neurol.* 35:89-97 (1994); Dore-Duffy et al., *Frontiers in Cerebral Vascular Biology: Transport and Its Regulation*, 243-248 (Eds. Drewes & Betz, Plenum, N.Y. 1993)).

[006] La interacción entre el $\alpha 4\beta 1$ y sus objetivos es un componente de la inflamación que tiene lugar en el SNC de los pacientes con esclerosis múltiple (MS). Bajo condiciones normales, el VCAM-1 no se expresa en el parénquima del cerebro. Sin embargo, en la presencia de citoquinas pro-inflamatorias, el VCAM-1 se regula hacia arriba sobre células endoteliales sobre células microgliales cerca de los sitios de inflamación (Elices et al., *Cell* 60:577-584 (1990); Lobb y Hemler, *J. Clin. Invest.* 94:1722-1728 (1994); Peterson et al., *J. Neuropathy Exp. Neurol.* 61:539-546 (2002)). Adicionalmente, la osteopontina, que exhibe muchas propiedades de una citoquina pro-inflamatoria, también se regula hacia arriba en lesiones de MS (Chabas et al., *Science* 294:1731-1735 (2001)).

[007] La MS es una enfermedad inflamatoria y auto-inmune seria y discapacitante de adultos jóvenes, con una edad pico de inicio en la tercera década de la vida. La mayoría de los individuos presentan la forma recaída-remisión de la enfermedad y experimentan ataques recurrentes, los cuales, con el tiempo, dan como resultado la acumulación de discapacidad física permanente y declinación cognitiva. Aproximadamente el 70% de estos individuos entrarán eventualmente en una fase de declinación neurológica progresiva (MS progresiva secundaria), con o sin recaídas superimpuestós. Los tratamientos habituales son mínimamente efectivos para la MS progresiva secundaria. La mayoría de los pacientes sufren de disfunción neurológica permanente y, en promedio, tienen una expectativa de vida de seis a siete años después del inicio de la enfermedad.

[008] Habitualmente, están aprobadas cuatro terapias en los Estados Unidos para el tratamiento de las formas de recaída de MS. Los interferones, Betaseron[®] (interferón β -1b SC (subcutáneo)), AVONEX[®] (interferón β -1a IM (intramuscular)), y Rebif[®] (interferón β -1a SC), son citoquinas con actividades antiviral, antiproliferativa, e inmunomoduladora. El Copaxone[®] (acetato de glatirámico) es una mezcla de polipéptidos sintéticos con un mecanismo de acción pobremente entendido. Los β -interferones pueden producir serios eventos adversos y alguna evidencia sugiere que el copaxone es inefectivo (Munari, et al., *The Cochrane Library*, Issue 1, Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. (2004)).

[009] Serios eventos adversos de los β -interferones incluyen reportes raros de reacciones de hipersensibilidad, depresión y suicidio, conteos sanguíneos periféricos disminuidos, daño hepático, cardiomiopatía, y varios trastornos auto-inmunes (Betaseron Package Insert, 2003; Rebif Package Insert, 2004; AVONEX[®] Package Insert, 2005). El desarrollo de anticuerpos neutralizantes a los interferones está asociado con una pérdida de eficacia. Los anticuerpos que desarrollan un β -interferón reaccionan de manera cruzada con otros interferones conduciendo la pérdida de eficacia para la clase completa en tales pacientes (IFNB MS Study Grup, *Neurology* 47:889-894 (1996); PRISMS Study Grup, *Neurology*, 56:1628-1636 (2001); Kappos et al., *Neurology* 65:40-47 (2005)). Como resultado, en solo los Estados Unidos, más de 50,000 pacientes que se trataron previamente ya no reciben la terapia. Así, existe un gran grupo de pacientes con MS activa que habitualmente no están recibiendo ninguna terapia probada.

[010] Entre aquellos pacientes que no reciben tratamiento, un número significativo continua experimentando la actividad de la enfermedad, como se observó clínicamente y mediante imágenes de resonancia magnética (MRI). Aunque una variedad de estrategias terapéuticas se utilizan habitualmente en la práctica clínica para manejar la enfermedad intercurrente mientras se está en tratamiento (por ejemplo, terapia conmutable, cambio de dosis y frecuencia de interferón, terapia de combinación), la eficacia similar entre los medicamentos disponibles y la falta de datos clínicos demuestran la efectividad de cualquiera de estas estrategias en pacientes con interurrencia hacen la decisión de que hacer para estos pacientes principalmente empírica. Cada uno los medicamentos aprobados parcialmente efectivos conducen a una reducción de aproximadamente el 30% en la tasa de recaída y el impacto limitado sobre la progresión de la discapacidad (IFNB MS Study Grup, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann, Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Grup, *Lancet*, 352:1498-1504 (1998); Jonson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Los datos provenientes de los ensayos Fase 3 del β -interferón en MS muestra que del 62% al 75% de los sujetos experimentaron por lo menos una recaída durante estos ensayos de 2 años a pesar del tratamiento con interferón (IFNB MS Study Grup, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann, Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Grup, *Lancet*, 352:1498-1504 (1998)). De manera similar, el 66% de los sujetos en el ensayo de MS Fase 3 de acetato de glatirámico experimentaron por lo menos una recaída durante el periodo de 2 años, una porción que no fue significativamente diferente de la del placebo (Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)).

[011] La Leucoencefalopatía Multifocla Progresiva (PML) es una enfermedad severa; rápidamente progresiva que destruye el recubrimiento de mielina que

protege las células del nervio. La PML ocurre casi exclusivamente en pacientes severamente inmunosuprimidos y está asociada frecuentemente con enfermedades linfoproliferativas y otras enfermedades crónicas, tales como el SIDA, la enfermedad de Hodgkin, la leucemia linfocítica crónica, la sarcoidosis, la tuberculosis, el lupus eritematoso sistémico, y el transplante de órgano. El virus JC (JCV) es el agente etiológico de la PML y puede resultar de una infección primaria o seguir la reactivación del virus latente.

[012] El Natalizumab, un antagonista de integrina $\alpha 4$, se ha utilizado exitosamente para tratar enfermedades con componentes inflamatorios y/o auto-inmunes, por ejemplo, MS, Enfermedad de Crohn, y artritis reumatoide. El natalizumab es un anticuerpo monoclonal IgG₄ κ humanizado dirigido contra las integrinas $\alpha 4$, $\alpha 4\beta 1$ y $\alpha 4\beta 7$. El intercambio de cadena entre el natalizumab y otras moléculas IgG₄ puede afectar las farmacocinéticas del natalizumab. Las diferencias en la concentración del IgG₄ entre pacientes o en un paciente durante el tiempo pueden conducir a diferencias en la concentración del natalizumab bivalente suministrado durante un período de dosificación. Esto puede conducir a la variación en la seguridad y/o eficacia entre pacientes o en un paciente durante períodos de dosis sucesivas.

[013] La variación en los niveles IgG₄ también puede conducir a una actividad de natalizumab excesiva en ciertos pacientes. Esto puede conducir a un riesgo creciente de infección en aquellos pacientes. Por ejemplo, existen tres casos conocidos de PML que ocurren durante o después de la administración del natalizumab, dos pacientes fatales y uno recuperado probados. Todos los tres casos ocurrieron en pacientes con medicamentos concomitantes que pudieron haber contribuido a la inmunosupresión.

[014] Así, subsiste una necesidad en la técnica para determinar la relación entre los niveles de IgG₄ y las farmacocinéticas del natalizumab, y para ajustar la dosis de natalizumab y el intervalo de dosis en ciertos pacientes en vista de esta información para mejorar la seguridad y/o la eficacia del tratamiento con natalizumab.

RESUMEN

[015] La invención suministra métodos más seguros para utilizar natalizumab al tratar pacientes con enfermedades inflamatorias y auto-inmunes.

[016] En un primer aspecto, la invención suministra un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab al administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis; monitorear la cantidad del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis; determinar una segunda dosis del natalizumab con base en el nivel de natalizumab bivalente observado; y administrar una segunda dosis de natalizumab durante un segundo período de dosis; en donde la segunda dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento durante el segundo período de dosis. En una modalidad del método el monitoreo muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima de un nivel predeterminado durante el primer período de dosis, y la dosis corregida de natalizumab administrado durante el segundo período de dosis se designa para lograr una reducción del nivel de natalizumab durante el segundo período de dosis por debajo del nivel predeterminado durante por lo menos una porción del segundo período de dosis. En una modalidad, la segunda dosis es

inferior que la primera dosis. En una modalidad el período de la segunda dosis es mayor que el primer período de dosis. En una modalidad la dosis corregida es inferior que la primera dosis, y en donde el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis. En una modalidad la primera dosis es de 300 mg administrada mediante infusión IV y el primer período de dosis es de cuatro semanas. En una modalidad el nivel predeterminado es de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo período de dosis es de más de cuatro semanas. En una modalidad el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.5 $\mu\text{g/ml}$, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo período de dosis es de más de cuatro semanas. En una modalidad el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.1 $\mu\text{g/ml}$, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo período de dosis es de más de cuatro semanas.

[017] La invención también suministra un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab, en donde la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente cae por debajo del nivel predeterminado durante el período de la primera dosis dentro de un tiempo predeterminado después de la administración de la primera dosis, y en donde la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis se designa para mantener el nivel del natalizumab por en cima del nivel predeterminado.

[018] En una modalidad del método la enfermedad es esclerosis múltiple. En una modalidad la esclerosis múltiple se selecciona de esclerosis múltiple recaída-remisión, secundaria progresiva, primaria progresiva y progresiva crónica. En una

modalidad del método la enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino o artritis reumatoide. En una modalidad la enfermedad inflamatoria del intestino es Enfermedad de Crohn.

[019] En una modalidad el método incluye además monitorear al paciente para indicadores de infección seria y/o tratar al paciente con la profilaxis designada para reducir el riesgo de desarrollar infección seria.

[020] En una modalidad el método incluye además monitorear al paciente para los indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una modalidad el monitoreo detecta el JCV en la orina, sangre y/o fluido cerebroespinal del paciente. En una modalidad el monitoreo comprende muestras de remoción en serie de la sangre del paciente, medir la cantidad de anticuerpos IgG a JCV en las muestras, y comparar la cantidad de los anticuerpos en las muestras. En una modalidad el monitoreo comprende además medir la cantidad de anticuerpos IgM JCV en las muestras, y comparar la cantidad de los anticuerpos IgM e IgG en las muestras. En una modalidad el monitoreo detecta la seroconversión y/o un título creciente de JCV en la orina y/o sangre del paciente, e incluye además remover la muestra del fluido cerebroespinal del paciente cuando la comparación de la orina serial y/o las muestras de sangre detectan seroconversión y/o un título creciente de JCV; y probar el fluido cerebroespinal para la presencia de JCV. En una modalidad el monitoreo incluye probar para los síntomas clínicos y/o radiológicos de leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una modalidad la prueba para los síntomas clínicos incluye probar para síntomas neurológicos nuevos o empeorados. En una modalidad los síntomas neurológicos incluyen uno o más de ceguera central, confusión mental, cambio de personalidad, y disquinesia. En una modalidad la prueba para síntomas radiológicos incluye desarrollar una

exploración de imágenes de resonancia magnética mejorada Gd. En una modalidad el método incluye, en la presencia de indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva, suministrar por lo menos un tratamiento seleccionado de terapia de inmunoglobulina intravenosa, plasmaféresis, y terapia antiviral. En una modalidad la terapia antiviral comprende la administración de por lo menos una dosis terapéuticamente efectiva de un agente antiviral seleccionado de citosina arabinósido (citarabina), cidofovir, y un antagonista de serotonina. En una modalidad el antagonista de serotonina es un antagonista 5HT_{2a}.

[021] En una modalidad del método el paciente no se trata simultáneamente con natalizumab y un agente inmunosupresor o antineoplásico. En una modalidad el agente inmunosupresor o antineoplásico se selecciona de uno o más de clorambucilo, melfalan, 6-mercaptopurina, tiotepa, ifodfamida, dacarbazina, procarbazona, temozolomida, hexametilmelamina, doxorubicina, daunarubicina, idarubicina, epirubicina, irinotecan, metotrexato, etopósido, vincristina, vinblastina, vinorelbina, citarabina, busulfan, amonifide, 5-fluorouracilo, topotecan, mustargen, bleomicina, lomustina, semustina, mitomicina C, mutamicina, cisplatina, carboplatina, oxaliplatina, metotrexato, trimetrexato, raltitrexida, flurorodesoxiuridina, capecitabina, florafur, 5-etiniluracilo, 6-tioguanina, cladribina, pentostatina, tenipósido, mitoxantrona, losoxantrona, actinomicina D, vindesina, docetaxel, amifostina, interferón alfa, tamoxefeno, medroxiprogesterona, megestrol, raloxifeno, letrozole, anastrozol, flutamida, bicalutamida, ácidos retinóicos, trióxido de arsénico, rituximab, CAMPATH-1, milotarg, ácido micofenólico, tracolimus, glucocorticoides, sulfasalazina, glatirámico, fumarato, laquinimod, FTY-720, interferón tau, daclizumab, infliximab, IL10, anticuerpo receptor anti-IL2, anticuerpo anti-IL-12, anticuerpo receptor anti-IL6, CDP-571, adalimumab, entanercept, leflunomida, anticuerpo gama anti-interferón,

abatacept, fludarabina, ciclofosfamida, azatioprina, ciclosporina, inmunoglobulina intravenosa, 5-ASA (mesalamina), y un interferón β .

[022] En otro aspecto la invención suministra un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab al determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente; determinar una dosis y un período de dosis de natalizumab con base en la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente; y administrar la dosis de natalizumab al paciente durante el período de dosis; en donde el período de dosis y dosificación mejoran la seguridad y/o eficacia del tratamiento comparado con la seguridad y/o eficacia suministrada por la dosis estándar y el período de dosis de natalizumab. En una modalidad del método la dosis estándar es de 300 mg mediante infusión IV y el período de dosis estándar es cada cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis de natalizumab determinada está por debajo de 300 mg mediante infusión IV. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En

una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 15 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 15 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 15 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es más corto de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está 100 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es más corto de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 15 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es más corto de cuatro semanas.

[023] En una modalidad del método la enfermedad es esclerosis múltiple. En una modalidad la esclerosis múltiple se selecciona de esclerosis múltiple recaída-remisión, secundaria progresiva, primaria progresiva, y progresiva crónica. En una modalidad del método la enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino o artritis reumatoide. En una modalidad la enfermedad inflamatoria del intestino es Enfermedad de Crohn.

[024] En una modalidad el método incluye además monitorear al paciente para indicadores de infección seria y/o tratar al paciente con profilaxis designada para reducir el riesgo de desarrollar infección seria.

[025] En una modalidad el método incluye además monitorear al paciente para indicaciones de leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una modalidad el monitoreo detecta JCV en la orina, sangre y/o fluido cerebroespinal del paciente. En una modalidad el monitoreo comprende muestras de remoción en serie de sangre del paciente, medir la cantidad de anticuerpos IgG a JCV en las muestras, y comparar la cantidad de los anticuerpos en las muestras. En una modalidad el monitoreo comprende además medir la cantidad de anticuerpos IgM a JCV en las muestras, y comparar la cantidad de los anticuerpos IgM e IgG en las muestras. En una modalidad el monitoreo detecta la seroconversión y/o un título creciente de JCV en la orina y/o sangre del paciente, e incluye además remover la muestra del fluido cerebroespinal del paciente cuando la comparación de la orina serial y/o las muestras de sangre detectan la seroconversión y/o un título creciente de JCV; y probar el fluido cerebroespinal para la presencia de JCV. En una modalidad el monitoreo incluye probar los síntomas clínicos y/o radiológicos de la leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una modalidad la prueba para los síntomas clínicos comprende probar nuevos o peores síntomas neurológicos. En una modalidad los síntomas neurológicos comprenden uno o más de ceguera central, confusión mental, cambio de personalidad, y disquinesia. En una modalidad la prueba para los síntomas radiológicos comprende desarrollar una exploración de imágenes resonancia magnética mejorada Gd. En una modalidad el método incluye además, en la presencia de indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva, suministrar por lo menos un tratamiento seleccionado de terapia de inmunoglobulina intravenosa, plasmaféresis, y terapia antiviral. En una

modalidad la terapia antiviral comprende la administración de por lo menos una dosis terapéuticamente efectiva del agente antiviral seleccionado de citosina arabinósido (citarabina), cidofovir, y un antagonista de serotonina. En una modalidad el antagonista de serotonina es un antagonista 5HT_{2a}.

[026] En una modalidad del método el paciente no se trata simultáneamente con natalizumab y un agente inmunosupresor o antineoplásico. En una modalidad el agente inmunosupresor o antineoplásico se selecciona de uno o más de clorambucilo, melfalan, 6-mercaptopurina, tiotepa, ifodfamida, dacarbazina, procarbazona, temozolomida, hexametilmelamina, doxorubicina, daunarubicina, idarubicina, epirubicina, irinotecan, metotrexato, etopósido, vincristina, vinblastina, vinorelbina, citarabina, busulfan, amonifide, 5-fluorouracilo, topotecan, mustargen, bleomicina, lomustina, semustina, mitomicina C, mutamicina, cisplatina, carboplatina, oxaliplatina, metotrexato, trimetrexato, raltitrexid, flurorodesoxiuridina, capecitabina, ftorafur, 5-etiniluracilo, 6-tioguanina, cladribina, pentostatina, tenipósido, mitoxantrona, losoxantrona, actinomicina D, vindesina, docetaxel, amifostina, interferón alfa, tamoxefeno, medroxiprogesterona, megestrol, raloxifeno, letrozole, anastrozol, flutamida, bicalutamida, ácidos retinóicos, trióxido de arsénico, rituximab, CAMPATH-1, milotarg, ácido micofenólico, tracolimus, glucocorticoides, sulfasalazina, glatirámico, fumarato, laquinimod, FTY-720, interferón tau, daclizumab, infliximab, IL10, anticuerpo receptor anti-IL2, anticuerpo anti-IL-12, anticuerpo receptor anti-IL6, CDP-571, adalimumab, entanercept, leflunomide, anticuerpo gama anti-interferón, abatacept, fludarabina, ciclofosfamida, azatioprina, ciclosporina, inmunoglobulina intravenosa, 5-ASA (mesalamina), y un interferón β .

[027] En otro aspecto la invención suministra un método para utilizar natalizumab para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune al determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis; monitorear el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis; determinar una segunda dosis y un período de dosis de natalizumab con base en la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente y en el nivel del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente; y administrar la segunda dosis de natalizumab durante el segundo período de dosis; en donde la segunda dosis y período de dosis mejora la seguridad y/o la eficacia del tratamiento. En una modalidad del método el monitoreo muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima de un nivel predeterminado durante el primer período de dosis, y la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis se designa para lograr una reducción del nivel de natalizumab durante el segundo período de dosis a menos del nivel predeterminado durante por lo menos una porción del segundo período de dosis. En una modalidad el nivel predeterminado es aproximadamente a primera dosis de natalizumab es de 300 mg administrado mediante infusión IV durante un primer período de dosis de cuatro semanas. En una modalidad el nivel predeterminado es de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$. En una modalidad el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.5 $\mu\text{g/ml}$. En una modalidad el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.1 $\mu\text{g/ml}$. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV. En una modalidad la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada

de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 15 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV. En una modalidad la cantidad IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 15 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 15 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas. En una modalidad la dosis estándar de natalizumab es de 300 mg de infusión IV y el período de dosis estándar es de cuatro semanas.

[028] En otra modalidad del método la dosis corregida es inferior que la primera dosis, o el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis, o la dosis corregida es inferior que la primera dosis y el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis. En una modalidad la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente cae por debajo del nivel predeterminado durante el primer período de dosis dentro de un tiempo predeterminado después de la administración de la primera dosis, y en donde la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis

se designa para mantener el nivel de natalizumab por encima del nivel predeterminado por lo menos hasta el tiempo predeterminado después de la administración de la segunda dosis durante el segundo período de dosis.

[029] En otra modalidad el método incluye además monitorear al paciente para indicadores de infección seria. En una modalidad la infección seria es leucoencefalopatía multifocal progresiva. En una modalidad el método incluye además tratar al paciente con profilaxis designada para reducir el riesgo de desarrollar infección seria. En una modalidad la infección seria es leucoencefalopatía multifocal progresiva.

[030] En otro aspecto la invención suministra un método para utilizar natalizumab al tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune al determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente antes de iniciar el tratamiento; iniciar el tratamiento del paciente con natalizumab en el evento de que la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente esté por encima de un umbral predefinido; e iniciar el tratamiento del paciente con natalizumab con monitoreo creciente para los indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva y/o infecciones oportunistas en el evento en que la cantidad del IgG4 en el plasma o suero del paciente esté en o por debajo de un umbral predefinido; en donde determinar la cantidad del IgG4 en el plasma o suero del paciente mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento. En una modalidad del método la cantidad de IgG4 en el plasma o suero de los pacientes está en o por debajo de un segundo umbral predefinido; el tratamiento no se inicia. En una modalidad se inicia el tratamiento si la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es de aproximadamente 200 $\mu\text{g/ml}$ o mayor. En una modalidad el tratamiento se inicia si la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es de aproximadamente 100 $\mu\text{g/ml}$ o

mayor. En una modalidad el tratamiento se inicia si la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es de aproximadamente 15 $\mu\text{g/ml}$ o mayor.

[031] En una modalidad el método incluye además determinar la cantidad IgG4 en el plasma o suero del paciente durante el tratamiento; y terminar el tratamiento en el evento en que la cantidad de IgG4 en el plasma o suero de los pacientes esté por debajo de un umbral predefinido. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 200 $\mu\text{g/ml}$ o inferior. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 100 $\mu\text{g/ml}$ o inferior. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 15 $\mu\text{g/ml}$ o inferior.

[032] En una modalidad el método incluye además monitorear la cantidad del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el tratamiento; y terminar el tratamiento en el evento en que la cantidad del natalizumab bivalente esté por encima de un umbral predefinido. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ o mayor. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 0.5 $\mu\text{g/ml}$ o mayor. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 0.1 $\mu\text{g/ml}$ o mayor.

[033] En una modalidad el método incluye además monitorear la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el tratamiento; y

terminar el tratamiento en el evento en que la cantidad de natalizumab bivalente esté por encima de un umbral predefinido. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ o mayor. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 0.5 $\mu\text{g/ml}$ o mayor. En una modalidad el tratamiento se termina si la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente es de aproximadamente 0.1 $\mu\text{g/ml}$ o mayor. En una modalidad la inmunoglobulina intravenosa se administra al paciente para reducir el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente. En una modalidad la terapia de plasmaferesis se administra al paciente para reducir el nivel del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente.

[034] En otro aspecto la invención suministra un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab al administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis; monitorear la cantidad del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis; determinar una segunda dosis de natalizumab con base en el nivel de natalizumab bivalente observado; administrar una segunda dosis de natalizumab durante un segundo período de dosis; y administrar la segunda dosis de natalizumab durante uno o más períodos de dosis posteriores; en donde la segunda dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento durante el segundo período de dosis.

[035] En otro aspecto la invención suministra un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab al determinar la cantidad del IgG4 en el plasma o suero del paciente; determinar una dosis y

período de dosis de natalizumab con base en la cantidad del IgG4 en el plasma o suero del paciente; administrar la dosis de natalizumab al paciente durante el período de dosis; y administrar la dosis de natalizumab al paciente durante uno o más períodos de dosis posteriores; en donde la dosis y el período de dosis mejora la seguridad y/o la eficacia del tratamiento comparado con la seguridad y/o eficacia suministrada mediante la dosis estándar y el período de dosis de natalizumab.

[036] En otro aspecto la invención suministra un método para utilizar natalizumab al tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune al determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente; administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis; monitorear el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis; determinar una segunda dosis y período de dosis de natalizumab con base en la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente y en el nivel del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente; administrar la segunda dosis de natalizumab durante el segundo período de dosis; y administrar la segunda dosis de natalizumab durante uno o más segundos períodos de dosis posteriores; en donde la segunda dosis y el período de dosis mejoran la seguridad y/o eficacia del tratamiento.

Descripción de la Invención

Definiciones

[037] Los términos utilizados aquí tienen sus significados ordinarios, como se establece adelante, y se pueden entender adicionalmente en el contexto de la especificación.

[038] Un "paciente" o "sujeto", utilizado intercambiabilmente aquí, es un humano a menos que se indique otra cosa.

[039] "Tratamiento" significa cualquier administración o aplicación de remedios para la enfermedad e incluye inhibir la enfermedad, disminuir su desarrollo, y aliviar la enfermedad, por ejemplo, al causar regresión, o restablecer o reparar una pérdida, desaparición, o función defectuosa o al estimular un proceso ineficiente.

[001] "Terminar" significa una cesación temporal o una permanente.

[002] "Dosis" significa la cantidad de natalizumab administrada al paciente.

[003] "Período de dosis" significa el tiempo entre la administración de una dosis y la siguiente administración sucesiva de una dosis. El período de dosis puede cambiar con una o más dosis o dosis adicionales sucesivas, o puede permanecer constante.

[004] "Natalizumab" o "Natalizumab[®]" es un anticuerpo humanizado contra VLA-4 como se describe en las Patentes U. S. Nos. 5,840,299 y 6,033,665, que se incorporan aquí como referencia en su totalidad. También se contemplan aquí otros anticuerpos específicos para VLA-4, que incluyen, pero no se limita a, las inmunoglobulinas descritas en las Patentes U.S. Nos. 6,602,503 y 6,551,593, y la Solicitud U. S. publicada No. 20020197233 de Relton et al. Estos anticuerpos se

pueden preparar mediante los métodos descritos en estos documentos, por sistemas de expresión de célula de mamífero, y por los sistemas de expresión de animal transgénico, por ejemplo, cabras transgénicas.

[005] Una "cantidad farmacéuticamente efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva", utilizada intercambiabilmente, es una cantidad suficiente para curar o por lo menos disminuir parcialmente los síntomas de una enfermedad y/o las complicaciones de una enfermedad.

[006] Un "antagonista de serotonina" es cualquier sustancia que disminuye uno o más efectos de la serotonina.

[007] "Seroconversión" es el cambio de una prueba serológica de negativo a positivo, indicando el desarrollo de anticuerpos.

[008] "Título" es la concentración de un anticuerpo en solución.

Anticuerpos IgG4

[009] Los anticuerpos son proteínas utilizadas por el sistema inmune para identificar y neutralizar objetos extraños como bacterias y virus. Cada anticuerpo reconoce un antígeno específico único a su objetivo. Las inmunoglobulinas son glicoproteínas en la superfamilia de la inmunoglobulina que funcionan como anticuerpos. Ellos se sintetizan y se secretan mediante las células de plasma que se derivan de las células B del sistema inmune. Las células B se activan luego de la unión a su antígeno específico y se diferencian en las células de plasma. En

algunos casos, la interacción de la célula B con la célula ayudante T también es necesaria.

[010] Las inmunoglobulinas son proteínas de plasma pesadas, a menudo con cadenas de azúcar agregadas de residuos de amino ácido N-terminal (todos los anticuerpos) y ocasionalmente O-terminal (IgA1 e IgD). La unidad básica de cada anticuerpo es un monómero. Un anticuerpo puede ser monomérico, dimérico, trimérico, tetramérico, pentamérico, etc. El monómero es una molécula de forma "Y" que consiste de dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas conectadas por enlaces disulfuro.

[011] Existen cinco tipos de cadena pesada: γ , δ , α , μ y ϵ . Ellos definen las clases de inmunoglobulinas. Las cadenas pesadas α y γ tienen aproximadamente 450 amino ácidos, mientras que la μ y ϵ tienen aproximadamente 550 amino ácidos. Cada cadena pesada tiene una región constante, que es la misma por todas las inmunoglobulinas de la misma clase, y una región variable, que difiere entre inmunoglobulinas de células B diferentes, pero es la misma para todas las inmunoglobulinas producidas por la misma célula B. Las cadenas pesadas γ , α y δ tienen la región constante compuesta de tres dominios pero tienen la región pivote; la región constante de las cadenas pesadas μ y ϵ está compuesta de cuatro dominios. El dominio variable de cualquier cadena pesada está compuesta de un dominio. Estos dominios son de aproximadamente 110 amino ácidos de largo. Existen también algunos amino ácidos entre los dominios constantes. Existen solamente dos tipos de cadena ligera: λ y κ . En los humanos, ellos son similares, pero solamente un tipo está presente en cada anticuerpo. Cada cadena ligera tiene dos dominios sucesivos: un dominio constante y uno variable. La longitud aproximada de una cadena ligera es de 211 a 217 amino ácidos.

[012] El monómero está compuesto de dos cadenas pesadas y dos ligeras. Juntas estas dan seis a ocho dominios constantes y cuatro dominios variables. El clivaje enzimático con papaína crea dos fragmentos Fab (fragmento de unión de antígeno) y un fragmento Fc (fragmento cristalizante), mientras que la pepsina cliva por debajo de la región pivote, de tal forma que el fragmento $f(ab)_2$ y el fragmento fc se forman. Así, cada mitad del extremo en tenedor del monómero con forma "Y" se denomina el fragmento Fab. Éste se compone de un dominio constante y uno variable de cada cadena pesada y ligera, el cual junto conforma el sitio de unión de antígeno en el extremo terminal amino del monómero. Los dos dominios variables unen los antígenos ellos son específicos porque elicitán su producción.

[013] El fragmento Fc está compuesto de dos cadenas pesadas que contribuye cada una a dos o tres dominios constantes (dependiendo de la clase del anticuerpo). Ésta se une a varios receptores de célula y proteínas de complemento. De esta manera, ésta media diferentes efectos fisiológicos de anticuerpos (opsonización, lisis celular, célula mástil, desgranulación de basófilo y eosinófilo y otros procesos). Las regiones variables de las cadenas pesada y ligera se pueden fusionar juntas para formar un fragmento variable de cadena única (scFv), que retiene la especificidad original de la inmunoglobulina padre.

[014] Las inmunoglobulinas se agrupan en cinco clases, o isotipos, con base en las diferencias en los dominios constantes de cadena pesada: IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE. (Los isotipos también se definen con las cadenas ligeras). Otros compañeros de células inmunes con anticuerpos para eliminar los patógenos

dependen de en cuales receptores de dominio de unión constante IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE ésta se pueda expresarse sobre su superficie.

[015] Los anticuerpos que producen un linfocito B único pueden diferir en su cadena pesada y la célula B a menudo expresa diferentes clases de anticuerpos al mismo tiempo. Sin embargo, ellos son idénticos en su especificidad para antígeno, conferida por su región variable. Para lograr el mayor número de especificidades el cuerpo necesita protegerse a si mismo contra muchos diferentes antígenos extraños, éste debe producir millones de linfocitos B.

[016] El IgG es una inmunoglobulina monomérica, construida de dos cadenas pesadas γ y dos cadenas ligeras. Cada molécula tiene dos sitios de unión de antígeno. Esta es la inmunoglobulina más abundante y es aproximadamente igualmente distribuida en la sangre y en los líquidos de los tejidos. Este es el único isotipo que puede pasar a través de la placenta, suministrando de esta manera protección al feto en sus primeras semanas de vida antes de que se haya desarrollado su propio sistema inmune. Éste se puede unir a muchas clases de patógenos, por ejemplo virus, bacterias, y hongos, y protege el cuerpo contra ellos mediante activación de complemento (senda clásica), opsonización para fagocitosis y neutralización de sus toxinas. Existen 4 subclases: IgG1 (66%), IgG2 (23%), IgG3 (7%) e IgG4 (4%). El IgG1, IgG3 e IgG4 atraviesan la placenta fácilmente. El IgG3 es el activador de complemento más efectivo, seguido por el IgG1 y luego el IgG2. El IgG4 no activa el complemento. El IgG1 y el IgG3 se unen con alta afinidad a los receptores Fc sobre células fagocíticas. El IgG4 tiene una afinidad intermedia y la afinidad del IgG2 es extremadamente baja.

[017] Los anticuerpos de inmunoglobulina G4 (IgG4) se han conocido durante algún tiempo por ser funcionalmente monovalentes. Recientemente, la base estructural de esta monovalencia se ha elucidado: el intercambio *in vivo* de las moléculas medias IgG (un H plus una cadena L) entre el IgG4. Este proceso resulta en anticuerpos específicos que en la mayoría de las situaciones se comportarán como anticuerpos funcionalmente monovalentes. La base estructural para el comportamiento anormal del IgG4 parece ser mayormente el resultado de un cambio del amino ácido único con relación al IgG1 humano: el cambio de una prolina en el pivote núcleo del IgG1 a serina. Este da como resultado en un cambio marcado en el equilibrio entre los puentes disulfuro de intercadena y los puentes disulfuro intracadena, que para el IgG4 resulta en un 25-75% de ausencia de una interacción covalente entre las cadenas H. En razón a las fuertes interacciones no covalentes entre los dominios CH3 (y posiblemente también entre el dominio CH1 y el dominio *trans*-CH2) el IgG4 es una molécula de cuatro cadenas estables y no intercambia fácilmente la mitad de las moléculas bajo condiciones fisiológicas estándar *in vitro*. El intercambio se puede catalizar *in vivo* mediante la proteína disulfuro isomerasa (PDI) y/o FcRn (el receptor Fc relacionado con el principal complejo de histo-compatibilidad (MHC)) durante el tránsito del IgG4 en la senda endosomal en células endoteliales, o por un mecanismo desconocido. En razón a que el IgG4 está predominantemente expresado bajo condiciones de exposición de antígeno crónica, la relevancia biológica de este intercambio de moléculas medias es que ésta genera anticuerpos que son incapaces de formar complejos grandes inmunes y por lo tanto tienen un bajo potencial para inducir inflamación inmune. En contraste a los fragmentos de inmunoglobulina monovalentes, estas inmunoglobulinas revueltas tienen una vida media normal. El significado de la biespecificidad resultante necesita evaluación adicional, porque esto será relevante solamente en

situaciones donde las respuestas de IgG4 altas se encuentren a dos antígenos no relacionados que ocurra que estén presentes en el cuerpo al mismo tiempo y lugar. En este contexto la significancia de la autoreactividad del IgG4 podría tener que ser re-evaluada. La función principal del IgG4, sin embargo, es presumiblemente interferir con la inflamación inmune inducida por los anticuerpos de complemento-fijación, o, en el caso de la infección con helmintos o alergia, por los anticuerpos IgE.

[018] La mayoría de los anticuerpos monoclonales consisten de un tipo de cadena L y H y tienen dos sitios de unión de antígeno idénticos, que hacen cada molécula de anticuerpo monoclonal bivalente. En el caso del IgG4, sin embargo, el intercambio de la mitad de la molécula in vivo crea anticuerpos que son monoclamentos biespecíficamente. La evidencia experimental que soporta esta visión de la estructura del IgG4 in vivo incluye las observaciones de que los anticuerpos IgG4 policlonales no reticulan dos antígenos, es decir, son funcionalmente monovalentes; en contraste con el anticuerpo IgG4 policlonal, el anticuerpo IgG4 monoclonal (quimérico) no reticula dos antígenos; una fracción sustancial del IgG4 (tanto monoclonal como policlonal) le falta una interacción covalente entre las cadenas pesadas, pero se mantiene como una estructura de cuatro cadenas solamente por vía de uniones no covalentes; y los anticuerpos bio-específicos se pueden encontrar en el plasma, los cuales son principalmente, si no exclusivamente, del tipo IgG4. Cuantitativamente, el nivel de reactividad bio-específica se puede predecir del nivel de anticuerpos IgG4 específicos de antígeno.

Natalizumab

[019] El natalizumab es un anticuerpo monoclonal IgG_{4k} humanizado recombinante dirigido contra las integrinas $\alpha 4$, $\alpha 4\beta 1$ y $\alpha 4\beta 7$. El natalizumab contiene regiones de estructura humanas y regiones determinantes de complementariedad de un anticuerpo de murino que se unió a la integrina $\alpha 4$. El peso molecular del natalizumab es de 149 kilodaltons.

[020] Los estudios de Yednock y otros han mostrado la eficacia clínica del bloqueo de la integrina $\alpha 4$ en la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), un modelo animal de MS (Yednock et al., *Nature* 1992; 356:63-66 (1992); Baron et al., *J. Exp. Med.* 177:57-68 (1993); Kent et al., *J. Neuroimmunol.* 58:1-10 (1995); Brocke et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96:6896-6901 (1999). Estos datos demostraron que el bloqueo de $\alpha 4$ -integrina por un anticuerpo de unión pueden evitar la migración de leucocito en el cerebro y así soportar la hipótesis de que las integrinas $\alpha 4$ son un objetivo para los terapéuticos MS. Además, estas observaciones soportan la hipótesis de que bloquear la acumulación de leucocitos en el cerebro evitará la destrucción local de mielina, el aislamiento de la cubierta que cubre las fibras nerviosas, y las neuronas, las cuales caracterizan las lesiones de MS. El natalizumab es el primer anticuerpo dirigido a este objetivo y los datos clínicos demuestran la relevancia de esta estrategia de tratamiento.

[021] el natalizumab es un miembro de una clase emergente de agentes conocidos como Inhibidores de Molécula de Adhesión Selectiva (SAM). El natalizumab que se une a las integrinas $\alpha 4\beta 1$ (también denominado VLA-4) y $\alpha 4\beta 7$ inhiben sus interacciones moleculares con receptores de integrina consanguíneos sobre las células endoteliales, VCAM-1 y MAdCAM-1, respectivamente. Al inhibir estas interacciones moleculares, el natalizumab evita el reclutamiento y egreso de los leucocitos en los sitios de inflamación. Un

mecanismo adicional de la acción del natalizumab puede ser suprimir las reacciones inflamatorias en proceso en tejidos enfermos al inhibir la interacción de los leucocitos que expresan $\alpha 4$ con otros ligandos en la matriz extracelular (osteopontina y fibronectina) y sobre las células parenquimales, tales como las células microgliales (VCAM-1). Como tal, el natalizumab puede suprimir la actividad inflamatoria en proceso en el sitio de la enfermedad e inhibir el reclutamiento adicional de células inmunes en tejidos inflamados. Así, tratar pacientes con MS con natalizumab puede bloquear la entrada de leucocitos mononucleares en el SNC y atenuar el proceso inflamatorio que resulta en la desmielinización y el daño axonal y finalmente suministrar beneficio clínico al reducir el número de recaídas clínicas y la progresión de la discapacidad, incluyendo la función motora, visual, y cognitiva.

Farmacocinéticos de Natalizumab

[022] Luego de la administración intravenosa repetida de una dosis de natalizumab de 300 mg a pacientes con esclerosis múltiple, la media máxima observada en la concentración de suero fue de $98 \pm 34 \mu\text{g/ml}$. Las concentraciones medias de natalizumab con régimen constante promedio sobre el período de dosificación fueron de aproximadamente $30 \mu\text{g/mL}$. La vida media de 11 ± 4 días se observó con una tolerancia de $16 \pm 5 \text{ mL/hora}$. El volumen de distribución de $5.7 \pm 1.9 \text{ L}$ fue consistente con el volumen de plasma.

[023] Como se midió en un ensayo de saturación de receptor in vitro, el natalizumab, directo desde el frasco, satura los linfocitos en la sangre completa a 0.3 a $1 \mu\text{g/ml}$. Este resultado es consistente con las observaciones sobre la adhesión celular, donde la adhesión estricta requiere $1 \mu\text{g/ml}$ de natalizumab. Sin

embargo, utilizar el mismo ensayo para examinar el natalizumab en las muestras de suero del paciente, aparece la saturación del receptor para requerir más de 10 ug/ml. Este efecto puede resultar de natalizumab que troca uno de sus brazos IgG4 con otros anticuerpos IgG4 en el suero in vivo, dando como resultado una pérdida de avidéz y potencia. Con base en el trabajo con otros anticuerpos de cadena única, este cambio podría fácilmente afectar la potencia en 100 veces. Por lo tanto, cualquier actividad de natalizumab significativa en la sangre vendría más probablemente de moléculas bivalentes que permanecen en la circulación después de que se estableciera el equilibrio con IgG4 endógeno. Los datos indican que este proceso parece ocurrir en una forma estequiométrica sobre un período de tiempo relativamente corto (horas a días). Así, en horas o días el nivel del natalizumab bivalente presente depende del nivel de inicio del IgG4 endógeno.

[024] Un rango típico para IgG4 endógeno es de aproximadamente 200 a 1000 ug/ml en humanos. Con base en los cálculos de la estequiometría, cuando el natalizumab está presente en 10 ug/ml (el nivel de sangre nadir típico luego de 300 mg de dosis administrada IV durante un período de dosis de cuatro semanas), el nivel del natalizumab bivalente variaría desde 0.02 a 0.24 ug/ml a niveles nadir (que promedian 0.12 ug/ml). Estos valores se ajustan muy bien con los niveles de saturación del receptor de 75-85% observados con natalizumab en muestras de paciente a niveles de nadir. La saturación funcional con el natalizumab bivalente ocurre a 1 ug/ml. El nivel de natalizumab bivalente, sin embargo, se incrementa significativamente con niveles inferiores de IgG4 endógeno. Por ejemplo, asumiendo un nivel de nadir de natalizumab a 10 ug/ml, en un paciente con 50 ug/ml de IgG4 endógeno el nivel del natalizumab bivalente sería de ~1 ug/ml (o saturación). Así los pacientes con niveles de IgG4 endógeno inferiores de aproximadamente 50 ug/ml, por ejemplo, pueden tener niveles crónicamente

saturantes de natalizumab durante el período de dosificación. A una concentración de IgG4 de aproximadamente 15 ug/ml el nivel del natalizumab bivalente completamente funcional a niveles nadir sería de 2.5 ug/ml, bien por encima de la saturación del receptor. Si a un individuo al que le falta IgG4 completamente, los niveles funcionales de natalizumab sería los mismos que los niveles nadir medidos, o aproximadamente 10 ug/ml en pacientes que reciben una dosis de 300 mg mediante infusión IV durante un período de dosificación de cuatro semanas.

[025] Como los cálculos de ejemplo anteriores hacen claro, el paciente con un nivel de IgG4 endógeno igual a o por debajo de cierto nivel, tal como aproximadamente 200 ug/ml, aproximadamente 100 ug/ml, aproximadamente 50 ug/ml, aproximadamente 15 ug/ml, o aproximadamente cero tendrían probablemente un perfil clínico muy diferente con natalizumab que pacientes con niveles normales de IgG4 endógeno (más de aproximadamente 1 ug/ml de anticuerpo funcional vs. 0.12 ug/ml).

[026] Estos cálculos también demuestran que el natalizumab exhibe una eficacia fuerte aunque las concentraciones caen por debajo de niveles de ocupación completos durante una o dos semana cada mes en pacientes típicos, que reciben una dosis estándar de 300 mg mediante infusión IV durante un período de dosificación de cuatro semanas. Esta observación sugiere que el tráfico de célula en el SNC de pacientes típicos sea solamente parcialmente inhibido durante parte de cada período de dosificación. Sin embargo, en una minoría de pacientes, particularmente aquellos con niveles bajos de IgG4 endógeno, los niveles nadir superiores del natalizumab bivalente pueden resultar en saturación del receptor prolongada con natalizumab, resultando en la inhibición completa de las integrinas $\alpha 4$, $\alpha 4\beta 1$ y $\alpha 4\beta 7$ durante el período de dosificación y una más profunda inhibición

de tráfico celular. Una consecuencia de esta condición es que aquellos pacientes están con alto riesgo de infección seria mientras se tratan con natalizumab.

[027] Cualquier factor que altere el nivel nadir del natalizumab total durante un intervalo de dosis también afectará el nivel nadir del anticuerpo de natalizumab completamente activo, bivalente. Por ejemplo, en un paciente con 100 ug/ml de IgG4 endógeno, si los niveles de natalizumab nadir se doblan, desde 10 ug/ml a 20 ug/ml, entonces el nivel del anticuerpo bivalente se triplicaría, incrementándose desde 0.5 ug/ml (por debajo de saturación) a 1.8 ug/ml (por encima de saturación). Los factores además de los niveles de IgG4 que podrían afectar el nivel del anticuerpo de natalizumab completamente activo, bivalente presentes durante el período de dosificación incluyen el peso corporal, la medicación concomitante, y la duración del tratamiento. Cuando se utiliza una dosis fija de natalizumab, las diferencias en el peso corporal pueden afectar los niveles de natalizumab en hasta tres veces, por ejemplo, 3 versus 9 ug/ml o 6 versus 16 ug/ml.

[028] Aunque el efecto del AVONEX[®] sobre los farmacocinéticos está en disputa, los datos derivados de un subconjunto pequeño de pacientes indican que los niveles nadir de natalizumab fueron de 12 ug/ml con natalizumab solo (el cual está en línea con todos los otros estudios) vs. 25 ug/ml cuando el natalizumab se co-administró con AVONEX[®]. Esta es una diferencia que de nuevo, podría triplicar el nivel de las moléculas de natalizumab bivalentes. Aún si este efecto no es estadísticamente significativo para la población en total – si el AVONEX[®] afecta el límite superior del rango o las concentraciones nadir de natalizumab para aún un pequeño número de individuos, esto podría originar un cambio significativo en el perfil de riesgo para la población total de pacientes.

[029] El natalizumab se puede administrar repetidamente, tal como a intervalos de cuatro semanas. El número de dosis anteriores de natalizumab puede afectar los niveles nadir experimentados durante cada intervalo de dosis posterior. Por ejemplo, los niveles de concentración parecen incrementarse con dosis repetidas de 5 ug/ml antes del número de dosis dos vs. 12 ug/ml para el número de dosis 15. Así, Tysabri puede acumularse con dosificación repetida.

Métodos de Tratamiento

[30] Las composiciones farmacéuticas de natalizumab serán administradas intravenosamente. La dosis de natalizumab administrada y el período de dosis se puede fijar a través de todos o una clase de paciente o se puede determinar con base en el peso del paciente. Por ejemplo, en una modalidad el natalizumab se administra a una dosis desde uno a cinco mg por kg de peso corporal mediante infusión IV. Alternativamente, una dosis fija de natalizumab se puede administrar a todos los pacientes o a una clase de pacientes independiente del peso corporal de los pacientes. Por ejemplo, en una modalidad el natalizumab se administra a una dosis de 300 mg mediante infusión IV.

[031] En una modalidad, la dosis, basada en peso o fija, se determina o ajusta con base en la cantidad del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente y/o la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente.

[032] En una modalidad la cantidad del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente y/o la cantidad del IgG4 en el plasma o suero del paciente se determinan durante el período de dosificación. La cantidad del natalizumab bivalente se puede determinar directamente o se puede determinar o estimar

indirectamente, tal como al medir la cantidad de IgG4 y/o el natalizumab total en el plasma o suero del paciente y calcular o estimar la cantidad del natalizumab bivalente sobre la base de aquellas mediciones.

[033] En una modalidad la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente se puede utilizar para determinar una dosis adecuada y el período de dosificación para la administración de natalizumab, antes de y/o después del inicio del tratamiento. Si la cantidad del IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$, por debajo de ug/ml , por debajo de 15 ug/ml , o inferior, tal como no detectable, la dosis de natalizumab determinada sobre la base de la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente puede ser inferior que la dosis estándar o inferior que la dosis previamente dada al paciente. También, el período de dosis determinado puede ser mayor que el período de dosis estándar, o mayor que uno o más períodos de dosis previamente programados. Por ejemplo, la dosis determinada puede estar por debajo de 300 mg mediante infusión IV, el período de dosis determinado puede ser mayor de cuatro semanas, o la dosis determinada puede estar por debajo de 300 mg mediante infusión IV y el período de dosis determinado puede ser mayor de cuatro semanas.

[034] En una modalidad la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero de un paciente durante un primer período de dosis se puede utilizar para determinar una segunda dosis de natalizumab para la administración durante un segundo período de dosis. Por ejemplo, si el monitoreo muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima de un nivel predeterminado durante el primer período de dosis, la dosis corregida de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis se puede designar para lograr una reducción del nivel de natalizumab durante el período de la

segunda dosis por debajo del nivel predeterminado durante por lo menos una porción del período de la segunda dosis. Esto se puede lograr, por ejemplo, al determinar una segunda dosis inferior que la primera dosis, un segundo período de dosis mayor que el primer período de dosis, o al determinar una segunda dosis inferior que la primera dosis y un segundo período de dosis mayor que el primer período de dosis. Por ejemplo, el nivel predeterminado puede ser de aproximadamente 1 ug/ml, aproximadamente 0.5 ug/ml, o aproximadamente 0.1 ug/ml. La segunda dosis de natalizumab puede estar por debajo de una dosis estándar y/o el período de dosis predeterminado puede ser mayor que el período de dosis estándar. Por ejemplo, la dosis determinada puede estar por debajo de 300 mg mediante infusión IV, el período de dosis determinado puede ser mayor de cuatro semanas, o la dosis determinada puede estar por debajo de 300 mg mediante infusión IV y el período de dosis determinado puede ser mayor de cuatro semanas.

Ensayo ELISA para Natalizumab Total y Bivalente

[035] La cantidad de natalizumab total en una solución, por ejemplo, en un fluido biológico tal como plasma o suero, se puede medir utilizando un Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzima (ELISA). La invención suministra ensayos ELISA que miden tanto el natalizumab monovalente como bivalente. Específicamente, éste suministra los ELISAS en sándwich de fase sólida para medir las concentraciones del natalizumab total y la concentración del natalizumab bivalente. Generalmente, los ensayos ELISA descritos aquí utilizan anticuerpos antiidiotipo específicos para natalizumab y anticuerpos ligados a enzima a la región Fc de los anticuerpos IgG4.

[036] Tanto en el natalizumab total como en los ELISA del natalizumab bivalente, el anticuerpo antiidiotipo está unido a una superficie sólida. Cualquier anticuerpo antiidiotipo específico para natalizumab es adecuado para uso en el ELISA. El anticuerpo 12C4 es un ejemplo de un anticuerpo antiidiotipo específico para la región variable de natalizumab y adecuado para uso en el ensayo. Las superficies sólidas adecuadas se conocen bien en la técnica e incluyen placas microtítulo.

[037] En el ensayo ELISA para el natalizumab total, el anticuerpo antiidiotipo está unido a la superficie a alta densidad. En una modalidad, el 12C4 está unido a una densidad de aproximadamente 2 ug/ml. Una solución de fluido que comprende una cantidad desconocida de natalizumab se agrega y se le permite interactuar con el anticuerpo antiidiotipo unido a la superficie bajo condiciones suficientes para el natalizumab en la solución para unirse al anticuerpo antiidiotipo. La porción no unida de la solución se remueve al lavar la superficie. El natalizumab que se une al anticuerpo antiidiotipo se detecta entonces utilizando un anticuerpo que es específico para la región Fc de los anticuerpos IgG4 y se conjugan, directa o indirectamente, a una enzima. La superficie se lava de nuevo para remover el IgG4 conjugado a enzima no unido. Un sustrato para la enzima se agrega y el producto de reacción se mide. La cantidad del producto de reacción se correlaciona con la cantidad del natalizumab en solución. Las enzimas adecuadas, los sustratos, y los dispositivos de medición se conocen bien en la técnica. En una modalidad, un anticuerpo comercialmente disponible al IgG4 conjugado a fosfatasa alcalina se utiliza para detectar el natalizumab unido.

[038] La cantidad de natalizumab bivalente también se puede medir mediante sándwich de fase sólida ELISA utilizando los métodos suministrados aquí. Un anticuerpo antiidiotipo se une a una superficie sólida a una baja densidad. En una

modalidad, el 12C4 está unido a la superficie a una densidad de aproximadamente 0.3 ug/ml. Una solución que comprende una cantidad desconocida de natalizumab se le permite interactuar como se describió anteriormente para el ELISA de natalizumab total. El natalizumab se detecta entonces con un anticuerpo antiidiotipo específico para el natalizumab bivalente, el cual no reconoce los monómeros de natalizumab en solución o los monómeros de natalizumab que tienen intercambiado una cadena pesada IgG4 con IgG4 endógeno y permanecen unidos al IgG4 endógeno. El anticuerpo antiidiotipo utilizado en la etapa de detección se conjuga a una enzima detectable. El anticuerpo antiidiotipo 12C4 es adecuado para uso en el ensayo de natalizumab bivalente tanto como el anticuerpo unido a fase sólida y/o como el anticuerpo de detección. Cuando se utiliza como el anticuerpo de detección, el 12C4 se conjuga a una enzima detectable.

[039] Una amplia variedad de sistemas de detección de enzima se conocen en la técnica. Ellos incluyen conjugados de fosfatasa alcalina, conjugados de avidina y estreptavidina, conjugados de peroxidasa de cola de caballo, conjugados de beta-galactosidasa, y similares. Una amplia variedad de sustratos también se conocen bien en la técnica e incluyen 4-nitrofenilfosfato, 2-nitrofenil-b-D-galactopiranosido, 2,2'-azino-di-[3-etilbenztiazolino sulfonato].

[040] La concentración tanto del natalizumab total como bivalente en el suero de monos tratados con natalizumab se determinó utilizando los ensayos ELISA de la invención. El natalizumab se midió 4, 24, y 72 horas después de la dosificación con 3 mg/kg. Los resultados de las mediciones a las 4 hr y 24 hr se muestran en la Tabla 1. El acrónimo "blq" se utiliza para denotar que los resultados estuvieron por

123

debajo del límite de cuantificación. El pico de suero con 10 ug/ml de natalizumab se utilizó como un control positivo.

Tabla 1: Niveles de Natalizumab en Suero Bivalente y Total

	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3
	4 hr		24 hr		
<u>Animal</u>	<u>Nat. Total</u>	<u>Nat. Bivalente</u>	<u>Nat. Total</u>	<u>Nat. Bivalente</u>	<u>Nat. Bivalente</u>
1	56.1	37.3	17.4	48.3	16.7
2	53.0	32.6	14.1	1.0	0.5
3			21.1	47.0	16.9
4	66.8	31.0	10.8	0.3	1.8
5	65.4	38.0	19.8	41.7	15.2
6			8.9	0.5	0.3
7	54.6	30.0	7.3	blq	0.2
8	53.0	27.8	9.6	blq	0.2
9			17.3	14.2	5.4
10	54.1	37.4	12.9	29.0	6.1
11	57.4	28.5	10.1	0.4-3	0.2
12			18.7	35.2	18.7

Seguridad del Natalizumab

[041] La seguridad del natalizumab se demuestra aquí, con base en los resultados de tratar 3,919 sujetos con natalizumab en ensayos clínicos para MS, Enfermedad de Crohn, y artritis reumatoide, dando como resultado 5,505 pacientes-años de exposición a natalizumab. El tratamiento con natalizumab fue generalmente bien tolerado. Ocurrieron dieciocho muertes emergentes al tratamiento en el programa completo de natalizumab. Los eventos adversos encontrados en los ensayos, tanto comunes como serios, fueron similares en pacientes y controles tratados con natalizumab. Los eventos adversos que condujeron a la discontinuación del natalizumab ocurrieron en 5.8% de los

pacientes con MS tratados con natalizumab y en 4.8% de los pacientes MS tratados con placebo, siendo la urticaria la causa más común de la discontinuación en los pacientes tratados con natalizumab (1.2%).

[042] Como en otros fármacos altamente activos utilizados para tratar enfermedades auto-inmunes, el natalizumab no está sin riesgo. Desafortunadamente, con la eficacia clínica de los agentes inmunomoduladores tales como el natalizumab está el riesgo de efectos colaterales significativos basados en el mecanismo. Los riesgos de los medicamentos que modulan la función inmune con el fin de tratar enfermedades crónicas serias han sido bien reconocidos durante los pasados varios años. Las medicinas tales como los antagonistas $TNF\alpha$ (por ejemplo, infliximab, adalimumab, y etanercept) son moduladores potentes de la función inmune y están aprobados para numerosas enfermedades auto-inmunes serias tales como artritis reumatoide, Enfermedad de Crohn, soriasis, artritis soriática, y espondilitis anquilosante. Aunque muy efectivos, estos agentes están asociados con eventos adversos serios, particularmente infecciones que se han asociado con morbilidad y mortalidad significativa.

[043] La invención suministra la identificación, a través de análisis de seguridad detallado, de PML como un riesgo raro, pero significativo, del tratamiento con natalizumab. Además, infecciones oportunistas no PML serias se han observado en los pacientes tratados con natalizumab, mayormente en pacientes con Enfermedad de Crohn en asocio con el uso inmunosupresor concurrente u otras co-morbilidades significativas. Además, hemos identificado poblaciones de pacientes en quienes el perfil de beneficio-riesgo está menos bien definido. La ocurrencia de estas infecciones resalta la necesidad de un programa de manejo

de riesgo comprehensivo en la configuración post-mercadeo focalizada en las condiciones de uso apropiadas y la evaluación y minimización del riesgo de PML y otras infecciones oportunistas serias.

Muertes

[044] De las dieciocho muertes que ocurrieron durante los ensayos clínicos, cinco ocurrieron en ensayo MS controlados por placebo, incluyendo dos en pacientes que habían recibido natalizumab y tres que habían recibido placebo). Los pacientes que recibieron natalizumab murieron de intoxicación por alcohol y melanoma maligno metastático. Los pacientes que recibieron placebo murieron de paro cardiaco, paro respiratorio, y carcinomatosis preural con convulsiones. Ocurrieron cuatro muertes en los ensayos MS de marca abierta, debido a paro respiratorio, PML, suicidio, y convulsiones debido a la MS.

[045] Se observaron en los ensayos seis muertes de pacientes con Enfermedad de Crohn tratados con natalizumab. La exposición al natalizumab fue aproximadamente tres veces mayor en estos ensayos que en la exposición al placebo. Las causas de muerte fueron infarto de miocardio agudo, falla aguda renal, asfixia por dióxido de carbono, PML, neumonía *pneumocystis carinni*, y aspergilosis broncopulmonar.

[046] Tres muertes ocurrieron en los ensayos de artritis reumatoide, dos en pacientes tratados con natalizumab y una en un paciente tratado con un placebo. Los pacientes tratados con natalizumab murieron de hemoptisis con falla respiratoria y enfermedad pulmonar reumatoide en fase terminal. El paciente tratado con placebo murió de insuficiencia circulatoria y respiratoria.

[047] En los estudios de MS, a parte de PML, ninguna otra señal de seguridad fue evidente de los estudios de las muertes. En los estudios de la Enfermedad de Crohn, un paciente murió de PML. Dos muertes adicionales en la Enfermedad de Crohn estuvieron asociadas con infecciones oportunistas, a saber, aspergilosis broncopulmonar y neumonía *pneumocystis carinni*. Estos pacientes tuvieron comorbilidades significativas, que podrían haber contribuido al desarrollo de estas infecciones.

Eventos Adversos

[048] Por lo menos un serio evento adverso se encontró en 251 de los 1,617 pacientes de MS tratados con natalizumab (15.5%) y 214 de 1,135 pacientes tratados con placebo (18.9%) en el ensayo controlado con placebo. Los eventos adversos serios más comunes, se clasificaron por sistemas de órganos, fueron trastornos del sistema nervioso (5.9% de natalizumab, 10.2% de placebo). La recaída de MS contribuyó significativamente a esta incidencia (4.7% de natalizumab, 9.0% de placebo). El segundo de los eventos adversos serios más comunes fueron las infecciones e infestaciones (2.4% de natalizumab, 2.2% de placebo), con apendicitis e infección del tracto urinario (<1% en ambos grupos) como el más común.

[049] La incidencia de las reacciones de hipersensibilidad, un evento esperado que resulta del tratamiento con proteínas terapéuticas, fue aproximadamente 4% con serias reacciones sistémicas que ocurrieron a una incidencia de menos del 1%. Las reacciones tendieron a ocurrir tempranamente en el curso del tratamiento, pero se observaron a lo largo del curso de infusión. Aunque los mecanismos

específicos de las reacciones no se han determinado, clínicamente, las reacciones parecieron ser reacciones de hipersensibilidad tipo inmediatamente mediadas por IgE o IgG típicas. Todos los pacientes se recuperaron sin secuelas.

[050] La ocurrencia de malignidades durante el tratamiento con natalizumab no fue común. La incidencia de malignidades se balanceó entre los grupos de natalizumab y de control. Las tasas de malignidades observadas durante el tratamiento con natalizumab estuvieron dentro de las tasas esperadas por comparación con los registros de cáncer existentes, tal como los Resultados de Epidemiología y Finales de Vigilancia del Instituto Nacional de Cáncer.

Evaluación de los Casos de PML

[051] Se han identificado tres casos confirmados de PML, dos de los cuales fueron fatales. Dos casos ocurrieron en pacientes de MS y uno en un paciente con Enfermedad de Crohn. Ambos pacientes MS recibieron natalizumab durante más de dos años además de AVONEX®. El paciente con Enfermedad de Crohn recibió ocho dosis de natalizumab durante un período de 18 meses y se inmunocomprometió debido a el uso de azatioprina crónico tal como se manifestó por la linfopenia persistente. Todos los tres pacientes de PML presentaron cambios clínicos insidiosos tempranos en el curso de su enfermedad que fueron notados por los pacientes o sus familias.

[052] El primer paciente en contraer un caso fatal de PML fue una hembra de 46 años de edad con MS que se presentó a su neurólogo con una parestesia y disestesia del lado derecho, y dificultades en sus extremidades superiores. La exploración del cerebro MRI demostró cuatro lesiones hiperintensas T2 no

mejorantes bilateralmente en la corona radiata. Seis semanas más tarde, ella presentó visión borrosa en su ojo derecho. La agudeza visual era de 20/15 en el ojo izquierdo y 20/100 en el derecho. El análisis de los fluidos de la columna produjo una célula sanguínea blanca, proteína normal y glucosa, y ninguna banda oligoclonal. Una exploración cerebral MRI de seguimiento reveló dos nuevas lesiones subcorticales en la región parietal derecha que fueron hiperintensas en imágenes FLAIR e hipointensas en T1.

[053] Se inició el tratamiento con AVONEX[®], pero ella posteriormente sufrió tres recaídas, el más reciente de los cuales involucró dolor similar de banda alrededor del abdomen, debilidad en las extremidades inferiores, y espasticidad que requirió tratamiento con metilprednisolona. Su calificación en la Escala de Estado de Discapacidad Expandida (EDSS) antes de la entrada en el estudio MS controlado con placebo, como se describe con más detalle adelante, fue de 2.5. Ella recibió 30 infusiones de natalizumab antes de entrar en el estudio de extensión de marcador abierto y recibir unas siete infusiones adicionales. Ella no tuvo exacerbaciones o se sospechó de recaídas durante su tiempo en el estudio controlado con placebo. Ella desarrolló cinco nuevas lesiones hiperintensas T2 agrandantes durante el primer año del estudio controlado con placebo y durante el segundo año. Ella fue negativa para los anticuerpos de natalizumab y su concentración de suero de natalizumab fue similar a la media de las poblaciones en estudio a través de su participación.

[054] En noviembre de 2004, ella inició experimentando disfunción motora, y dificultades cognitivas y de lenguaje, que progresaron a la hemiparesis derecha durante el siguiente mes. Una exploración de cerebro MRI desarrollada en diciembre de 2004 reveló hiperintensidad T2 frontal izquierda e hipointensidad T1

con extensión en el centrum semioval y la corona radiata sin mejoramiento Gd. Ella recibió dos cursos de esteroides en altas dosis durante los siguientes cinco meses, pero continuó declinando. Ella recibió su última dosis de natalizumab en enero 18 de 2005. Ella se readmitió en el hospital en febrero 12 de 2005 con un estado de empeoramiento clínico. Una exploración del cerebro MRI repetida en febrero de 2005 mostró la extensión de la lesión vista previamente. Un trabajo extensivo durante las siguientes semanas reveló ADN viral JC en el CSF, dando como resultado el diagnóstico de PML. Ella murió en febrero 24 de 2005. El examen spot-mortem reveló órganos normales sin evidencia de infecciones oportunistas. El examen del cerebro reveló cavitación extensiva, severa principalmente en el hemisferio izquierdo así como también áreas ovoides no cavitadas múltiples a lo largo de la materia blanca de ambos hemisferios típica de PML, que tiene astrositos reactivos con núcleos hipercromáticos alargados (Kleinschmidt-DeMasters y Tyler, *N. Engl. J. Med.* 353:369-374 (2005)).

[055] El segundo paciente es un macho de 46 años que experimentó sus primeros síntomas de recaída/remisión de MS en 1983. Su pasada historia médica es significativa por zoster auricular, síndrome de Ramsay-Hunt, y melanoma. Su historia familiar es notable por una hermana con MS. Él se había tratado con AVONEX® desde 1998, y experimentó tres recaídas el año antes a enrolarse en el estudio MS controlado con placebo, durante el cual él no experimentó recaídas o evidencia de progresión. Él fue negativo a los anticuerpos anti-natalizumab y su concentración de suero de natalizumab fue similar a la media de las poblaciones en estudio a lo largo de su participación.

[056] En octubre de 2004, su exploración MRI mostró una pequeña lesión con mejoramiento Gd periventricular al lado derecho y una lesión hiperintensa T2 sin

mejoramiento, subcortical, frontal derecha pequeña. En noviembre de 2004, él exhibió cambios del comportamiento seguido por hemiparesis y daño cognitivo. Su última dosis de natalizumab fue en diciembre de 2004. En febrero de 2005, a pesar del tratamiento con altas dosis de metilprednisolona intravenosa, él continuó deteriorándose. Una exploración MRI del cerebro en febrero de 2005 demostró la extensión de la lesión previamente identificada. Él se sometió a un trabajo extensivo, que incluyó análisis CSF y biopsia del cerebro, el cual dio como resultado el diagnóstico de PML. El tratamiento con Cidofovir se inició sin efecto clínico. La carga viral JC disminuyó en su plasma y CSF durante los siguientes pocos meses. Esto correspondió al deterioro adicional en su curso y desarrollo clínico de lesiones con mejoramiento de Gd sobre MRI, consistente con el Síndrome Inflamatorio de Reconstitución Inmune. Él continuó recibiendo tratamiento con cidofovir, y se agregó citarabina. Aproximadamente 3 meses luego de discontinuar el natalizumab, él inicio la mejora. Él es capaz de conversar y puede mantener conversaciones de alto nivel a cerca de su curso médico y tratamiento, pero tiene un daño cognitivo residual significativo con hemiparesis izquierda y ataxia (Langer-Gould et al., *N. Eng. J. Med.* 353:375-381 (2005)).

[057] El paciente final fue un macho de 60 años de edad con una historia de 28 años de Enfermedad de Crohn. Durante el curso de su enfermedad, él se ha tratado con azatioprina, budesonida oral, corticoesteroides, y cuatro dosis de infliximab. Él desplegó signos pre-existentes de hematopoyesis afectada, predominantemente linfopenia y anemia, desde 1996 y recibió azatioprina a inicios de 1999. Él se enroló en el estudio fase 3 de natalizumab en pacientes con Enfermedad de Crohn activa en marzo de 2002 y recibió tres dosis concomitantemente con azatioprina antes de iniciar aleatoriamente con placebo en el estudio de mantenimiento fase 3. Él permaneció con azatioprina y placebo hasta

noviembre de 2002 cuando se discontinuó la azatioprina debido a pancitopenia refractaria. En febrero de 2003, él inició un tratamiento de marcación abierta con natalizumab. Él fue negativo para los anticuerpos anti-natalizumab y su concentración de suero de natalizumab fue similar a la media de las poblaciones en estudio a lo largo de su participación.

[058] En julio de 2003, un mes después de su quinta dosis de natalizumab, él se presentó con una historia de una semana de declinación cognitiva. Una exploración de MRI del cerebro demostró una lesión hiperintensa T2 grande en el lóbulo frontal derecho, y lesiones hiperintensas adicionales en los lóbulos frontal y temporal izquierdo que no mejoraron con gadolinio. Él sufrió una resección parcial de la lesión, cuya patología se leyó al tiempo con un astrocitoma anaplásico, OMS Grado III. Él se trató con corticoesteroides y anticonvulsionantes, pero estuvo demasiado enfermo para la terapia de radiación. Un MRI de seguimiento seis semanas después de la cirugía mostró la extensión del tumor. Él se deterioró clínicamente y murió en diciembre de 2003. El caso se reportó por el médico tratante como un astrocitoma maligno, con base en el reporte de patología final. En febrero, como resultado de un caso confirmado y uno que se sospechaba de PML descrito anteriormente, su caso se reevaluó y se determinó que era PML luego de la consulta con dos neuropatólogos independientes con expertise en PML (Van Assche et al., N. Engl. J. Med. 353:362-368 (2005)).

[059] Los pacientes en ensayo clínico expuestos a natalizumab se evaluaron sistemáticamente para evidencia de PML incipiente o cualquier otra infección oportunista. Los pacientes se evaluaron si ellos tenían cualquier deterioro neurológico activo para el cual el PML no se podría excluir como un diagnóstico,

mostrando anormalidades MRI para las cuales el PML no se podría admitir, o su CSF tenía títulos de ADN JCV detectables.

[060] Se establecieron criterios prospectivamente para la evidencia neuroradiológica y los ensayos de laboratorio para el diagnóstico de PML. Un diagnóstico de "PML confirmado" se definió mediante la presencia de enfermedad clínica progresiva, signos MRI típicos de PML, detección de ADN de JCV en CSF, o confirmación patológica. Se definió la evidencia suficiente para excluir PML como flata de enfermedad neurológica progresiva, lesiones MRI no típicas de PML o estables durante el tiempo, o ADN JCV no detectable en el CSF si se sospechaba MRI. Un caso se consideraba "indeterminado" si había sospecha clínica o MRI de PML y no se podían obtener datos de seguimiento clínico, MRI, o CSF.

[061] Un total de 3,826 participantes elegibles en el estudio (2,248 pacientes MS, y 1,578 pacientes con Enfermedad de Crohn/artritis reumatoide) se notificaron para reportar a su médico/investigadores tratantes para una evaluación. A los investigadores se les solicitó desarrollar el procedimiento de evaluación incluyendo la historia médica, el examen neurológico, el MRI del cerebro, y la recolección de CSF. Las muestras de sangre también se recolectaron para análisis PCR de ADN JCV como un adjunto exploratorio. Las exploraciones MRI se evaluaron por los Centros Lectores Centrales con experticio en trastornos neurológicos, que incluyen los dos Centros Lectores Centrales para los estudios de MS de fase 3 originales. Una guía de consenso se desarrolló prospectivamente para estandarizar los criterios para ayudar a distinguir anormalidades de la materia blanca MS de aquellas del PML.

[062] En todos los pacientes del estudio 3,389 (89%) con MS, Enfermedad de Crohn, o artritis reumatoide se evaluaron por sus médicos tratantes, 3,116 de ellos habían recibido natalizumab. Los restantes 273 pacientes habían recibido placebo como parte de un ensayo clínico y se incluyeron como grupo de control. De los 437 que no se evaluaron, 60 (22 pacientes de MS, 38 pacientes con Enfermedad de Crohn/artritis reumatoide) se perdieron para seguimiento. Entre los 3,389 pacientes que participaron, 2,046 fueron pacientes con estudio de MS, más del 97% de los cuales fueron vistos a los tres meses de su última dosis de natalizumab. Seis pacientes MS se refirieron para evaluación adicional. De estos pacientes con ensayo clínico, cinco se refirieron debido a empeoramiento neurológico y uno debido a posible PML con base en los hallazgos de MRI. La revisión de la exploración MRI efectivamente excluyó el diagnóstico de PML en los cinco pacientes referidos con base en la preocupación clínica. Los análisis de MRI y CSF repetidos excluyeron PML en el caso referido con base en los hallazgos de MRI.

[063] De los 1,349 pacientes con Enfermedad de Crohn/artritis reumatoide quienes participaron en la evaluación de seguridad, 21% fueron vistos a los tres meses de su última dosis, 91% dentro de los seis meses. Treinta y cinco pacientes se evaluaron, incluyendo uno debido a síntomas clínicos o neurológicos, 32 con base en sospechas en cambio en el MRI, uno debido a un número de copia JCV de plasma alto, y uno debido a una incapacidad de desarrollar MRI en un paciente con un examen neurológico normal. La tasa más alta de examen de la Enfermedad de Crohn comparado con el MS fue predominantemente manejada por la falta de exploraciones MRI de línea base para comparación en la población con Enfermedad de Crohn. La mayoría de los casos se consideraron no basados en PML en la revisión del examen neurológico, el MRI y, si estaba disponible, la

prueba CSF. Para los diez casos en los cuales permaneció aún preocupación, se desarrollaron evaluaciones MRI repetidas y todas se diagnosticaron como "no PML" con base en la falta de progresión clínica, la falta de progresión de MRI durante los dos meses luego del MRI inicial que condujo a una referencia para evaluación, y en algunos casos, los resultados de la prueba CSF.

[064] Las exploraciones MRI del cerebro con y sin la secuencia de mejoramiento Gb y FLAIR fueron algunas veces una herramienta útil para excluir un diagnóstico de PML en los casos MS. La existencia de exploraciones MRI de pre-tratamiento y en tratamiento incrementaron la especificidad y ayudaron en la interpretación de las exploraciones MRI de seguimiento obtenidas al variar los puntos de tiempo, especialmente en la configuración cuando la condición neurológica del paciente se empeoró. Durante el proceso de evaluación de seguridad, la comparación con la exploración previa se requirió en aproximadamente 35% de los casos MS en razón de la presencia de lesiones para las cuales el PML no se podría excluir definitivamente. Después de la comparación con una exploración anterior, el neuroradiólogo fue capaz de excluir el PML en más del 99% de los casos de MS.

[065] El CSF estaba disponible para prueba en 396 pacientes que se habían tratado para MS o Enfermedad de Crohn con natalizumab. El JCV no se detectó en ninguno de estos casos, incluyendo 19 pacientes evaluados con base en criterios clínicos o de MRI. Las muestras de 411 pacientes con MS y otros trastornos neurológicos sirvió como CSF y los controles del plasma fueron evaluados en colaboración con el Instituto Karolinska y los Institutos Nacionales de Salud (Yousry et al., *N. Engl. J. Med.* programado para publicación en marzo 2, 2006). Ningún JCV detectable se encontró en estas muestras CSF, conformando la especificidad del ensayo CSF para solamente los casos activos de PML. Cada

uno de los tres pacientes con PML confirmado tuvo un ADN JCV detectable. Un estudio previo había indicado que el JCV se encontró en 11% de los especímenes biológicos de los 121 pacientes con MS probados (Ferrante et al., *Múltiple Sclerosis* 4:49-54 (1998)).

[066] El plasma se probó para la presencia de ADN JCV como una medida exploratoria. La población completa con estudio de consentimiento (2,370 pacientes) se evaluó utilizando un sistema automatizado de alto rendimiento de extracción de ADN y análisis PCR. Además, el subconjunto aleatorio de muestras se evaluó utilizando un método manual de bajo rendimiento. Aunque el método manual se demostró que era un orden de magnitud más sensible que el sistema de alto rendimiento, dadas las técnicas involucradas, la prueba que utiliza este método solo fue posible en aproximadamente el 10% de la población total (209 pacientes). De los 2,370 pacientes provenientes de la evaluación de seguridad quines se probaron para viremia JC, solamente cinco pacientes (0.2%) tuvieron un ADN JCV detectable, tres de los cuales nunca habían recibido natalizumab. Además, el ADN JCV no se detectó en ninguna de las 411 muestras de los pacientes con MS sin tratar con el tratamiento y los pacientes con otras enfermedades neurológicas. Estos resultados se confirmaron utilizando el método de extracción manual. Además del subconjunto aleatorio de 209 pacientes probados por el método manual, cinco muestras adicionales (2.4%) tenían un ADN JCV detectable. Ninguno de los pacientes con ADN JCV detectable en su plasma mediante ningún método tuvo características clínicas o hallazgos de MRI que sugirieran PML.

[067] Las muestras de suero estuvieron disponibles de los tres pacientes con PML confirmado obtenido tanto antes como después del diagnóstico. Solamente

un paciente, el paciente con Enfermedad de Crohn, tuvo un ADN JCV detectable en el suero antes del inicio de sus síntomas. Los otros dos pacientes no tuvieron ADN JCV detectable a pesar de ser clínicamente sintomáticos para la enfermedad y manifestar cambios en la exploración MRI del cerebro. Las observaciones en estos grupos de pacientes son consistentes con los datos provenientes de la literatura que demuestran que la simple presencia del ADN JCV en el plasma no es predictiva ni diagnóstica de PML.

[068] En resumen, la evaluación de seguridad comprehensiva desarrollada luego de la identificación del PML en pacientes tratados con natalizumab no descubrió casos confirmados adicionales de PML en más de los 3,000 pacientes examinados. Aproximadamente todos los pacientes que habían recibido natalizumab en estudios recientes de MS, Enfermedad de Crohn, y artritis reumatoide se contaron durante la evaluación, haciendo poco probable que cualquier caso del PML pasara desapercibido. La ocurrencia del PML se limitó a dos casos de MS y a un caso de Enfermedad de Crohn, como se describió originalmente. La incidencia del PML en sujetos tratados con natalizumab en MS y los ensayos clínicos de la Enfermedad de Crohn son por lo tanto aproximadamente 1/1,000 con un 95% de intervalo de confianza que varía desde 0.2 a 2.8/1,000. La prueba de plasma sondeada por no ser ni predictiva ni diagnóstica del PML, consistente con la literatura publicada (Kitamura et al., *J. Infect. Dis.* 161:1128-1133 (1990); Tornatore et al., *Ann. Neurol.* 31:454-462 (1992); Dorries et al., *Virology* 198:59-70 (1994); Agostini et al., *J. Clin. Microbiol.* 34:159-164 (1996); Dubois et al., *AIDS* 10:353-358 (1996); Knowles et al., *J. Med. Virol.* 59:474-479 (1999); Dorries et al., *J. Neurovirol.* 9 (Suppl 1):81-87 (2003)). Las anormalidades clínicas y de MRI estuvieron presentes en dos de los tres pacientes con PML antes que se detectara ADN JCV en el plasma. Además, el

ADN JCV se detectó en el plasma en varios sujetos en el estudio que no tuvieran signos clínicos o radiográficos de PML, incluyendo tres que nunca habían recibido natalizumab. Estos resultados sugieren que establecer un nivel estático de JCV en el plasma no es útil para predecir la probabilidad de PML en pacientes asintomáticos. Los médicos y pacientes deben permanecer vigilantes por signos y síntomas de PML y tienen un bajo umbral para suspender el tratamiento e iniciar el trabajo diagnóstico apropiado (MRI, análisis CSF) en pacientes tratados con natalizumab que presentan nueva declinación neurológica.

Consecuencias de Detener la Terapia

[069] Las consecuencias de detener la terapia de natalizumab se evaluaron cuidadosamente en un estudio fase 2, que involucró 213 pacientes aleatorizados para recibir seis infusiones mensuales de placebo, 3 mg/kg de natalizumab, o 6 mg/kg de natalizumab. Los pacientes se siguieron durante siete meses después de la última infusión. Durante ese tiempo, las recaídas y otros eventos adversos se registraron, y se desarrollaron exploraciones MRI cuatro meses y siete meses después de la última dosis de natalizumab. Las comparaciones se hicieron entre el grupo de placebo y los dos grupos de dosificación de natalizumab. Como se esperaba, la proporción de pacientes que experimentó recaída, así como también la frecuencia de las recaídas, se originó en el grupo de natalizumab a niveles comparables con aquellos del grupo de placebo después de cesar el fármaco de estudio. Más aún, hubo un incremento gradual en la proporción de las exploraciones de MRI activas en el grupo de natalizumab a niveles comparables con aquellos del grupo de placebo después de cesar la terapia. Así, la cesación del tratamiento con natalizumab resultó en la pérdida de eficacia, pero no hubo evidencia de un incremento en la actividad de la enfermedad más allá de la que se

habría esperado hubiera habido sin tratamiento con natalizumab, es decir, no se observó ningún efecto de re-ligamiento. Por lo tanto, los pacientes con MS que descontinuaron la terapia con natalizumab no tienen un riesgo creciente por un incremento marcado en la actividad de la enfermedad.

Interacciones del Fármaco

[070] En un estudio de MS controlado con placebo, la administración de AVONEX[®] pareció estar asociada con un incremento en las concentraciones de suero de natalizumab en una corte pequeña en quienes se desarrolló un muestreo farmacocinética intensivo. Sin embargo, con base en la comparación del parámetro post-hoc medio se estima del análisis farmacocinético de la población, un espacio de régimen estacionario y valores de vida media difirieron entre los pacientes que tomaron concurrentemente AVONEX[®] y los de monoterapia de natalizumab, pero solamente en aproximadamente el 5%, y no se consideraron clínicamente significativos. Además, el natalizumab se toleró bien cuando se administró a 589 pacientes en combinación con AVONEX[®] durante hasta 120 semanas. Es notable que los dos reportes de PML en la base de datos MS ocurrieran en pacientes que reciben concomitantemente AVONEX[®]. Así, el riesgo de PML con tratamiento de natalizumab se puede incrementar mediante tratamiento concomitante con el interferón β , aunque esto podría haber ocurrido en dos pacientes con terapia de combinación debido a la sola posibilidad ($p=0.23$).

[071] La seguridad del natalizumab en combinación con el acetato de glatirámero se evaluó al administrar el natalizumab durante seis meses a pacientes que continuaron recibiendo 20 mg de acetato de glatirámero diariamente. No hubo interacciones entre el acetato de glatirámero y las farmacocinéticas de

natalizumab o su saturación del receptor α 4-integrina. Sin embargo, este estudio fue de tamaño o duración insuficiente para establecer la seguridad o la eficacia a largo plazo en esta población.

Eficacia del Natalizumab

Esclerosis Múltiple

[072] La MS es una enfermedad crónica del cerebro y la columna vertebral. En zonas templadas tales como los Estados Unidos, la incidencia de MS es de aproximadamente 1 a 5/100,000 por año (Sociedad Nacional de MS de los US; NMSS), con una prevalencia en US estimada en 350,000 a 400,000. Es una enfermedad de adultos jóvenes, principalmente mujeres, con un inicio de la enfermedad que ocurre típicamente entre las edades de 20 y 40. La primera manifestación clínica de la MS usualmente toma la forma de un síndrome clínicamente aislado que afecta el nervio óptico (neuritis óptica), la columna vertebral (mielitis transversal), o el tallo del cerebro/cerebelo (Runmarker y Anderson, *Brain* 116:117-134 (1993)). Estimaciones del número de pacientes que eventualmente van a desarrollar MS varían ampliamente, pero, en el caso de la neuritis óptica, la presencia de lesiones similares a MS en el MRI al momento del ataque indican una probabilidad mayor del 80% de desarrollar MS clínicamente definitivo a los 10 años (O'Riordan et al., *Brain* 121:495-503 (1998); Sailer et al., *Neurology* 52:599-606 (1999)).

[073] La desmielinización y la transacción de la fibra nerviosa se cree que ocurre cuando los linfocitos T activados cruzan la barrera sangre-cerebro e hincan una serie de eventos que conducen a la activación de las células endoteliales, el

reclutamiento de linfocitos adicionales y monocitos, y la liberación de citoquinas pro-inflamatorias. Las lesiones de MS consisten típicamente de células inmunes, axones desmielinizantes, oligodendrocitos que intentan la remielinización, astrocitos proliferantes, y grados variantes de transacción axonal. Las citoquinas tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y el interferón gama (TFN- γ) interactúan con las células inmunes, amplificando este proceso. El evento de iniciación de la cascada inflamatoria es desconocido; sin embargo, la adhesión y la migración trans-endotelial de las células inflamatorias provenientes del torrente sanguíneo a través de la barrera sangre-cerebro y hacia el sistema nervioso central (SNC) se cree que es una etapa temprana y crítica de este proceso.

[074] Los datos emergentes demuestran que la pérdida axonal irreversible ocurre tempranamente en el curso de la MS. En razón a que los axones transectados no se regeneran en el SNC, el tratamiento temprano efectivo apuntada a suprimir la formación de lesión MS es de capital importancia. Tan temprano como al inicio de la enfermedad, los axones se transectan en lesiones con inflamación activa (Trapp et al., *N. Engl. J. Med.* 338:278-285 (1998); Bjartmar y Trapp, *Curr. Opin. Neurol.* 14:271-278 (2001); Ferguson et al. *Brain* 120 (Pt 3):393-399 (1997)). El grado de desmielinización se relaciona con el grado de inflamación y la exposición a los axones desmielinizados en el ambiente inflamatorio, así como también los mediadores no inflamatorios (Trapp et al., *N. Engl. J. Med.* 338:278-285 (1998); Kornek et al., *Am. J. Pathol.* 157:267-276 (2000); Bitsch et al., *Brain* 123:1174-1183 (2000)). Existe también la destrucción de los oligodendrocitos con la remielinización dañada en las lesiones desmielinizantes (Peterson et al., *J. Neuropathy Exp. Neurol.* 61:539-546 (2002); Chang et al., *J. Neurovirol.* 8:447-451 (2002)). La pérdida de los oligodendrocitos conduce a una reducción en la capacidad del remielinado y puede dar como resultado la pérdida de factores

tróficos que soportan los neurones y los axones (Bjartmar et al., *J. Neurocytol.* 28:383-395 (1999)).

[075] Las lesiones inflamatorias típicas del MS pueden ocurrir a lo largo del SNC, pero ciertos sitios parecen particularmente vulnerables, tal como el nervio óptico, el tallo cerebral, la columna vertebral, y las regiones periventriculares del cerebro. Ésta es la pérdida resultante de mielina y de fibras nerviosas en estas áreas que conduce a una conducción neuronal afectada y a los síntomas tales como debilidad, pérdida sensorial, pérdida visual, visión doble, y desbalance. En el MS recaída-remisión, estos episodios de desmielinización resultan típicamente en varias semanas de disfunción neurológica seguida por una recuperación parcial o completa. Sin embargo, los ataques más severos pueden dar como resultado déficits permanentes. Los ataques recurrentes durante el tiempo conducen a acumular discapacidad física y declinación cognitiva.

[076] Un número de medidas, que incluyen medidas clínicas, aquellas basadas en las exploraciones MRI, y aquellas basadas en la calidad de vida, se pueden utilizar para evaluar la eficacia del producto para tratar MS. La Escala de Estado de Discapacidad Expandida (EDSS) es una herramienta extensivamente utilizada para hacerle seguimiento al curso de la discapacidad en MS. Ésta clasifica en los daños neurológicos asociados a MS más comunes en niveles de discapacidad que varían de 0 a 10; con cada etapa sucesiva describiendo un empeoramiento de la enfermedad. En el rango inferior de la escala EDSS, la progresión de la enfermedad se define principalmente al incrementar los niveles de discapacidad en sistemas funcionales específicos medidos durante el examen neurológico. Las mayores calificaciones, en el rango de 4.0 y por encima indicaron una discapacidad crecientemente severa que afecta la ambulación, incluyendo la

necesidad de dispositivos de ayuda tales como un bastón (un EDSS de 6.0), un caminador (un EDSS de 6.5), o una silla de ruedas (un EDSS de 7.0).

Las calificaciones mayores de 7.0 clasifican los pacientes confinados a la cama.

[077] El Compuesto Funcional MS (MSFC) (Whitaker et al., *Multiple Sclerosis* 1:37-47 (1995)) también se utiliza para evaluar la eficacia. A diferencia de los resultados clínicos tradicionales de MS las medidas que se derivan del examen neurológico estándar, el MSFC está basado en pruebas cuantitativas de función/ambulacion de pierna (la Caminata de 25 Pies Cronometrada), la función del brazo (la Prueba de los Nueve Huecos de Clavija), y la función cognitiva (La Prueba de Adicción en Serie de Auditoría en Pasos) (PASAT 3)) que se expandió luego de las mediciones del EDSS y de evaluar los efectos en las dimensiones clínicas no bien capturadas por esta escala.

[078] El MRI es otra herramienta para evaluar la eficacia para tratar MS y se puede utilizar sola o para soportar datos clínicos para evaluar los efectos terapéuticos en los puntos finales de recaída y discapacidad. El MRI es una herramienta sensible para monitorear la actividad de la enfermedad, detectando aproximadamente cinco a diez veces más actividad de la enfermedad tanto en el MS recaída-remisión como en los pacientes de MS progresivos secundarios que son clínicamente evidentes (Isaac et al., *Neurology* 38:1511-1515 (1988); Willoughby et al., *Ann. Neurol.* 25:43-44 (1989); Khoury et al., *Neurology* 44:2120-2124 (1994); Thompson et al., *Ann. Neurol.* 9:53-62 (1991); Thompson et al., *Neurology* 42:60-63 (1992)). Las secuencias de T2 pesadas en pacientes de MS detectaron nuevas áreas de desmielinización aguda, así como también áreas más crónicas de desmielinización y gliosis. Por esta razón, el MRI pesado con T2 es una buena técnica para monitorear la acumulación de lesiones durante el tiempo,

como un conteo de las lesiones activas o un cambio en el volumen total de tales lesiones.

[079] La infusión de ácido gadolinio-dietilenotriamina pentaacético (Gd-DPTA) durante la adquisición de las secuencias pesadas con T1 permite la visualización de la ruptura de la barrera sangre-cerebro secundaria a la característica de inflamación de las lesiones MS agudas. La evidencia hasta la fecha sugiere que el mejoramiento de (Gd) gadolinio es un marcador útil para la actividad de la enfermedad que se correlaciona con la recaída clínico (Molyneux et al., *Ann. Neurol.* 43:332-339 (1998); Kappos et al., *Lancet* 353:964-969 (1999); McFarland et al., *Multiple Sclerosis* 8:40-51 (2002)).

[080] Nuevas lesiones hipointensas en las secuencias pesadas T1 en pacientes con MS se corresponden con lesiones inflamatorias que mejoran con Gd (que comprenden edema, desmielinización, pérdida axonal, o combinaciones de estas patologías) (Bruck et al., *Ann. Neurol.* 42:783-793 (1997)) o como lesiones crónicas con pérdida axonal considerable. Aproximadamente la mitad de las hipointensidades T1 agudas sobre MRI evolucionarán a "huecos negros T1" crónicos que se correlacionan con la progresión de la discapacidad (Simon et al., *Neurology* 55:185-192 (2000)).

[081] Como se describe con más detalle en el Ejemplo 1, los dos estudios de fase 3 se condujeron para estudiar el efecto de dos años de tratamiento con natalizumab. Uno de los estudios utilizó solo natalizumab (el estudio de monoterapia) y el otro utilizó natalizumab en combinación con AVONEX® (el estudio de terapia agregado). Los dos estudios de fase 3 se diseñaron con dos grupos de puntos finales primario y secundario. Los puntos finales primario y

secundario se seleccionaron para medir los efectos del natalizumab sobre los aspectos inflamatorios de la enfermedad después de una media de un año de seguimiento en cada estudio (900 pacientes-años de observación en el estudio de monoterapia; 1,200 pacientes-año en el estudio de terapia agregada).

[082] El punto final primario de estos estudios fue la tasa anualizada de las recaídas clínicas. Dos de los puntos finales secundarios fueron dos mediciones MRI de soporte de la actividad de la enfermedad inflamatoria, a saber, el número medio de lesiones hiperintensas T2 agrandadas nuevas o nuevamente agrandadas (medir la acumulación de lesiones durante el tiempo) y el número medio de lesiones con mejoramiento con Gd (medir la actividad de la enfermedad aguda), colocada en orden de importancia. La proporción de pacientes que permanecen libres de recaída suministró un tercer punto final secundario.

[083] Otra serie de puntos finales se evaluó en la conclusión de cada estudio luego de dos años de tratamiento con natalizumab. Los puntos finales de este análisis final se seleccionaron para determinar los efectos del natalizumab sobre las mediciones asociadas con la progresión de la enfermedad de MS. El punto final primario a los dos años fue el momento hasta el inicio de la progresión sostenida de la discapacidad, medida mediante cambios en las calificaciones EDSS. Similar al análisis de un año, los puntos finales secundarios fueron los MRI adicionales y las mediciones clínicas que soportarían el análisis primario. Los puntos finales secundarios a los dos años, se colocaron en orden de importancia, donde la tasa de recaídas de MS (para confirmar observaciones de recaída de un año), el volumen medio de las lesiones hiperintensas T2 (una medición de la carga de la enfermedad MS total), el número medio de lesiones hipointensas T1 (una medición de la pérdida axonal), y la progresión de la discapacidad determinada

por cambios en el MSFC (para confirmar y expandir hasta que la discapacidad se efectúe mediante EDSS).

[084] Dados los dos puntos finales primarios en dos puntos de tiempo diferentes (tasa de recaída anualizada a un año, tiempo de progresión de la discapacidad a dos años), el procedimiento de Hochberg para comparaciones múltiples (Hochberg, *Biometrika* 75:800-802 (1988)) se utilizó para evaluar el punto final primario. Cada conjunto de puntos finales secundarios se priorizó en orden de importancia como se listó anteriormente. Se utilizó un procedimiento de prueba cerrado se utilizó para cada conjunto, de tal forma que si no se lograba significancia estadística para el punto final dentro de un conjunto, todos los puntos finales de un rango inferior en el grupo no fueran consideradas estadísticamente significativas. Los análisis de los puntos finales terciarios no incluyen ajustes para comparaciones múltiples.

Monoterapia con Natalizumab

[085] Estos resultados del estudio de monoterapia indicaron que el natalizumab es un tratamiento efectivo como monoterapia para la MS recaída-remisión. El tratamiento de natalizumab dio como resultado efectos significativos sobre las tasas de recaída, la progresión de la discapacidad, y todas las mediciones MRI, los puntos finales primario y secundario del estudio. El análisis de curvas de Kaplan-Meier indican que el impacto sobre las tasas de recaída y la progresión de la discapacidad fue evidente poco después de la iniciación del tratamiento, y se sostuvo a lo largo del período de tratamiento con los grupos de pacientes que continuaron para divergir en el punto de tiempo final. Además, estos hallazgos

fueron consistentes a través de los subgrupos. Los efectos positivos adicionales se vieron sobre las mediciones de la severidad de la recaída y la calidad de vida.

[086] Los pacientes de MS tratados solo con natalizumab tuvieron un riesgo inferior del 42% de su discapacidad progresiva comparada con el placebo, medido por los cambios en el EDSS, el punto final primario del estudio a los dos años ($p < 0.001$). El porcentaje de pacientes estimado para progresar fue de 17% y 29% con natalizumab y placebo, respectivamente. Además al EDSS, el natalizumab tuvo efectos significativos sobre todos los puntos finales de recaída estudiados durante los dos años, que incluyen una reducción del 68% en la tasa de recaída anualizada comparado con el placebo, con 67% de pacientes tratados con natalizumab que permanecieron libres de recaída, comparados con 41% de los pacientes con placebo. Las exploraciones MRI soportaron estos efectos clínicamente observados. También, el tratamiento con natalizumab mejoró la calidad de vida del paciente, medido por los componentes físico y mental del SF-36. Todos estos efectos fueron consistentes y significativos a través de los subgrupos definidos mediante la demografía de línea base y la actividad de la enfermedad.

Terapia de Combinación de Natalizumab y de AVONEX®

[087] Un número significativo de pacientes que recibieron las terapias concurrentemente aprobadas continuaron experimentando la actividad de la enfermedad, medida tanto clínicamente como mediante MRI. Este es un resultado esperado de estas medicamentos aprobadas parcialmente efectivas, cada una de las cuales conduce a una reducción de aproximadamente 30% en la tasa de recaída (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann.*

Neurol. 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998); Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Los datos provenientes de los ensayos de fase 3 del interferón β para el tratamiento de MS mostraron que el 62% al 75% de los pacientes experimentó por lo menos una recaída durante estos ensayos de dos años a pesar del tratamiento con interferón (IFNB MS Study Group, *Neurology* 43:655-661 (1993); Jacobs et al., *Ann. Neurol.* 39:285-289 (1996); PRISMS Study Group, *Lancet* 352:1498-1504 (1998)). De manera similar, el 66% de los sujetos en el ensayo MS de fase 3 de acetato de glatirámico experimentaron por lo menos una recaída durante el período de 2 años, un número que no es significativamente diferente del placebo (Johnson et al., *Neurology* 45:1268-1276 (1995)). Aunque una variedad de estrategias terapéuticas están concurrentemente en uso en la práctica clínica para manejar el progreso de la enfermedad aunque en tratamiento (por ejemplo, terapia de cambio, cambiar la dosis y la frecuencia del interferón, terapia de combinación), estas prácticas son principalmente empíricas en razón a que no hay ensayos aleatorizados, controlados, para evaluar la eficacia de estas aproximaciones.

[088] El estudio de terapia agregada se diseñó para evaluar la eficacia del natalizumab contra el control activo para pacientes que rompen a través de la monoterapia AVONEX®. La elección del interferón β se sostuvo mediante los datos disponibles en los mecanismos propuestos de acción de los fármacos disponibles. Como se discutió anteriormente, el natalizumab tuvo un mecanismo bien definido de acción, específicamente de adhesión celular de objetivo y de migración trans-endotelial por vía de las integrinas $\alpha 4$. Aunque el mecanismo exacto mediante el cual el interferón β ejerce eficacia en la MS no se conoce, el interferón β induce un gran número de procesos celulares involucrados en la secreción de citoquina y los cambios de fenotipo celular. El interferón β regula hacia abajo la producción de

molécula MHC clase II inducida por interferón γ , disminuye la secreción de las citoquinas pro-inflamatorias TH1 (TNF- α , IL-2 e interferón γ) e incrementa la secreción de citoquinas anti-inflamatorias TH2 (IL-4 e IL-10) (Rep et al., *J. Neuroimmunol.* 67:111-118 (1996), Kozovska et al., *Neurology* 53:1692-1697 (1999); Rudick et al., *Neurology* 50:1266-1272 (1998)). Además, el interferón β puede afectar el tráfico de leucocitos a través de la supresión de quimioquinas RANTES y MIP-1 α , así como también su receptor CCR5 (Zang et al., *J. Neuroimmunol.* 112:174-180 (2001)). Existe, por lo tanto, razones científicas para esperar que el bloqueo de las integrinas α 4 mediante natalizumab, cuando se agregan al interferón β , puedan tener un efecto aditivo o sinérgico cuando se agregan solo al interferón β .

[089] El natalizumab también se probó eficaz cuando se utilizó para tratar pacientes que concurrentemente recibían tratamiento con AVONEX[®]. Antes de recibir natalizumab, estos pacientes experimentaron actividad de la enfermedad a pesar del tratamiento activo. Así, el AVONEX[®] sirvió como un control activo. El estudio demostró que el natalizumab, cuando se agregó al AVONEX[®], dio como resultado una reducción del 24% en el riesgo de progresión de la discapacidad, medido mediante cambios en el EDSS ($p=0.024$). El porcentaje de pacientes que se estimó para progresar fue del 23% con natalizumab más AVONEX[®] comparado con el 29% en AVONEX[®] solo.

[090] El natalizumab tuvo efectos significativos sobre todos los puntos finales de recaída examinados, cuando se compararon con el AVONEX[®] durante dos años, incluyendo una reducción del 55% en la tasa de recaída anualizada, con el 54% de pacientes tratados con natalizumab libres de recaída comparados con el 32%

de pacientes con AVONEX®. Las exploraciones MRI soportaron estos efectos clínicamente observados. También, el natalizumab, cuando se comparó con la terapia de AVONEX® sola, mejoró la calidad de vida de los pacientes, medida mediante los componentes físicos del SF-36, con una tendencia al componente mental. Todos estos efectos fueron consistentes y significativos a lo largo de los subgrupos definidos mediante las demografías de línea base y la actividad de la enfermedad.

Leucoencefalopatía Multifocal Progresiva

[091] La PML es una enfermedad infecciosa del sistema nervioso central causada por la infección JCV de oligodendrocitos. El JCV es un virus de polioma humano que se cree que infecta la mayoría de los individuos saludables en una edad temprana. La seroprevalencia de los anticuerpos anti-JCV en individuos saludables se ha estimado en el rango del 20% al 80% dependiendo de la metodología de las pruebas (Knowles et al., *J. Med. Virol.* 71:115-123 (2003)); Knowles y Sasnauskas, *J. Virol. Methods.* 109:47-54 (2003)).

[092] La PML ocurre predominantemente en individuos inmunocomprometidos con una tasa de muerte ajustada a la edad debido al PML de 3.3 por millón de personas (en 1994), el 89% de los cuales eran pacientes de SIDA (Holman et al., *Neuroepidemiol.* 17:303-309 (1998)). Sin embargo, se han reportado casos raros de PML en pacientes con trastornos auto-inmunes que recibieron terapia inmunosupresora; entre estos, tres pacientes con artritis reumatoide (Sponzilli et al., *Neurology* 25:664-668 (1975); Rankin et al., *J. Rheumatol* 22:777-79 (1995); Durez et al., *Arthritis Rheum.* 46 (9S):536 (2002)), uno de los cuales se trató con antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF) (Durez et al., *Arthritis Rheum.* 46

(9S):536 (2002)). También hubo un reporte de PML en un paciente con Enfermedad de Crohn, pero los tratamientos concomitantes no se especificaron (Garrels et al., *Am. J. Neuroradiol.* 17:597-600 (1996)).

[093] La patología del PML es distintiva y comprende múltiples focos de desmielinización de tamaño variante desde lesiones puntuales a áreas de varios centímetros. Las lesiones pueden ocurrir en cualquier parte pero usualmente están en los hemisferios del cerebro, menos a menudo en el cerebelo y en el tallo cerebral y raramente en la columna. Los oligodendrocitos en la zona periférica que circundan un área de desmielinización son en general anormales. Los núcleos de los oligodendrocitos anormales están empacados con viriones JC. Típicamente, la PML evoluciona gradualmente, con daño de la función mental y afectación del habla y la visión. El movimiento también se puede afectar. La enfermedad progresa entonces rápidamente y el paciente se discapacita severamente, eventualmente volviéndose demente, ciego, y paralizado; el coma y la muerte seguirán.

[094] La presencia del JCV en la sangre y orina de pacientes con PML y saludables, los individuos inmunocompetentes se han descrito (Kitamura et al., *J. Infect. Dis.* 161:1128-1133 (1990); Tornatore et al., *Ann. Neurol.* 31:454-462 (1992); Dorries et al., *Virology* 198:59-70 (1994); Sundsfjord et al., *J. Infect. Dis.* 169:485-490 (1994); Agostini et al., *J. Clin. Microbiol.* 34:159-164 (1996); Dubois et al., *AIDS* 10:353-358 (1996); Knowles et al., *J. Med. Virol.* 59:474-479 (1999); Dorries et al., *J. Neurovirol.* 9(Suppl 1):81-87 (2003)). Estos hallazgos no son predictivos ni diagnóstico de PML en estos pacientes; así que la relación de carga viral de la sangre u orina al PML no es clara.

151

[095] La presentación clínica del PML es principalmente dependiente del tamaño y distribución de las lesiones de materia blanca que se desarrollan como resultado de la infección viral, la desmielinización, y la lisis de células gliales. Sin embargo, las características clínicas de la presentación ayudan a diferenciarla de la desmielinización asociada con MS. En contraste con la MS, el involucramiento de PML de la columna vertebral o los nervios ópticos es raro. En su lugar, aproximadamente un tercio de los pacientes presentará pérdida de campo visual o ceguera cortical con otra tercera presentando con mentalidad alterada o cambios de comportamiento (Dworkin et al., *Curr. Clin. Top. Infect. Dis.* 22:181-195 (2002)). También a diferencia de MS, la hemiparesis es un síntoma de presentación común. Estos síntomas son típicamente subagudos en el inicio y siguen un curso progresivo lento. A menudo, los pacientes y sus familias son los primeros en notar el inicio del PML a través de los cambios en la capacidad de desarrollar las actividades de rutina de la vida diaria, aún antes de la presentación de los cambios en el examen neurológico.

[096] El MRI es una herramienta sensible para la detección de las lesiones de PML en la configuración de los signos o síntomas clínicos, aunque puede faltar especificidad. Las lesiones MS típicas, la desmielinización de otras causas (por ejemplo, encefalomielitis, encefalopatía de VIH), gliosis, y edema pueden tener a menudo una apariencia similar a lesiones PML tempranas. Sin embargo, como se muestra en la Tabla 1, existen características de lesiones PML que ayudan a diferenciarlas de otras etiologías (Post et al., *Am. J. Neuroradiol.* 20:1896-1906 (1999); Yousry et al. *N. Engl. J. Med.* in press (2006); (Berger et al., *Ann. Neurol.* 44:341-349 (1998); Hoffmann et al., *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 74:1142-1144 (2003); Langer-Gould et al., *N. Engl. J. Med.* 353:375-381 (2005)).

• Tabla 2. Diagnóstico Diferencial de MS y PML

•	• MS	• PML
• Localización de nuevas lesiones	• Principalmente focales, pueden afectar el cerebro completo y la columna vertebral, en la materia blanca y posiblemente la gris; • • • Lesiones de la fosa posterior se ven raramente •	• Difusa, principalmente sub-cortical, raramente periventricular, casi exclusivamente en la materia blanca, aunque en la extensión ocasional a la materia gris se puede ver; • Fosa posterior frecuentemente involucrada (cerebelo)
• límites	• Bordes agudos, formas principalmente redondas o similares a dedo (especialmente periventricular), confluentes con otras lesiones simples, fibras en U pueden estar involucradas.	• Bordes definidos de la enfermedad, infiltrante, irregular en forma, confinada a la materia blanca, materia gris esparcida, empuja contra el córtex, fibras en U destruidas.
• Modo de extensión	• Focal, agrandamiento de las lesiones en días/semanas, posterior disminución en tamaño a los meses	• Difusión, asimétrica, se extiende homogéneamente, no hay confluencia con otras lesiones, definida con pistas de materia blanca, córtex esparcido, progresión continua.
• Efecto de Masa	• Lesiones agudas también pueden mostrar algún efecto de masa	• No existe efecto de masa aún en lesiones grandes (pero el proceso es ligeramente empujado contra el córtex)
• Secuencia de peso T2	• Lesiones agudas: centro hiperintenso, anillo isointenso, hiperintensidad discreta fuera de la estructura de anillo; • Lesiones sub-agudas/crónicas: hiperintensa, sin estructura de anillo	• Difuso hiperintenso, intensidad ligeramente creciente de áreas recientemente involucradas comparado con áreas viejas, intensidad de señal irregular pequeña de lesiones
• Secuencia de peso T1	• Lesiones agudas: densamente hipointenso (lesiones grandes) o isointensas (lesiones pequeñas), incrementar la	• Ligeramente hipointenso desde el inicio, señal de intensidad decreciente durante el tiempo y a lo largo

		intensidad de señal durante el tiempo en 80%, disminuyendo la intensidad de señal (pérdida axonal) en aproximadamente 20%	del área afectada, sin reversión de intensidad de señal
• Secuencia de penetración	• Hiperintensa, agudamente delineada	• Hiperintensidad más obvia, extensión real de la anomalía más claramente visible que en las imágenes pesadas T2	
• Mejoramiento	• Lesiones agudas: mejoramiento denso homogéneo, bordes agudos, • Lesiones subagudas: mejoramiento de anillo • Lesiones crónicas: no hay mejoramiento	• Usualmente no hay mejoramiento aún en lesiones grandes, en pacientes con VIH+ algún mejoramiento periférico es posible, especialmente bajo terapia	
• Atrofia	• Atrofia focal posible debido a la generación de la materia blanca focal, sin progresión	• No hay atrofia focal en razón a que el proceso patológico extendido es ligeramente empujado contra el córtex (extensión del tejido)	

[097] El análisis MRI puede suministrar un diagnóstico diferencial del MS y PML en pacientes que reciben natalizumab. Los pacientes de los que se sospecha PML demuestran la presencia de lesiones multifocales, asimétricas, de materia blanca, reflectivas de desmielinización mediante MRI. La recuperación de la inversión pesada con T₂ y atenuada con fluido (FLAIR) MRI revela lesiones hiperintensas a través de la materia blanca subcortical suprasensorial (Post et al., *Am. J. Neuroradiol.* 20:1896-1906 (1999)). Las lesiones de materia blanca de PML están típicamente no circundadas por edema, no producen efecto de masa, y no mejoran en la presencia de material de contraste de gadolinio (Post et al., *Am. J. Neuroradiol.* 20:1896-1906 (1999)). Sin embargo, las imágenes pesadas T₂ y FLAIR hiperintensas no son específicas para desmielinización y pueden representar gliosis o edema. Otros procesos desmielinizantes, encefalopáticos o

isquémicos tales como el MS, la encefalitis postviral, la encefalopatía por VIH y el infarto, pueden demostrar características de imágenes no específicas similares (Olsen et al., *Radiology* 169:445-448 (1988), Hurley et al., *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 15:1-6 (2003)). La localización de las lesiones y sus características morfológicas, la ausencia o una presencia atípica de mejoramiento de gadolinio sobre las imágenes pesadas T₁, y la implementación de la transferencia de magnetización MRI también pueden ayudar a diferenciar la desmielinización del PML de otros procesos desmielinizantes, edema o gliosis (Ernst et al., *Radiology* 210:439-543 (1999); Hurley et al., *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 15:1-6 (2003)).

[098] El diagnóstico clínico de PML se configura mediante examen histológico o virológico del material del cerebro obtenido mediante biopsia del cerebro o postmortem. Antes de que se haga la biopsia, tanto el suero como el CSF se deben examinar para anticuerpos contra JCV. Un resultado positivo no confirmará PML, pero un resultado negativo hace el diagnóstico de PML muy poco probable. Es raro detectar anticuerpos contra JC en el CSF, y cuando ellos se detectan, esto es sugerencia de multiplicación activa de JCV dentro del SNC. La biopsia del cerebro o el material de autopsia se pueden examinar mediante microscopia electrónica o microscopía electrónica inmunohistológica. El espécimen también se puede examinar directamente para antígeno JCV mediante inmunofluorescencia o tñido de inmunoperoxidasa. El aislamiento viral del JCV se ha reportado por ser difícil, pero puede intentarse de las células gliales fetales humanas primarias. La presencia del virus en el cultivo se confirma mediante microscopia electrónica, inmunofluorescencia, o hemaglutinación.

[0099] El análisis PCR del CSF para ADN viral JC es una prueba altamente sensible y específica para el diagnóstico de PML. La especificidad de esta prueba se aproxima al 100%, con una sensibilidad que varía del 60% al 90% (Henson et al., *Neurology* 41:1967-1971 (1991); Gibson et al., *J. Med. Virol.* 39:278-281 (1993); Weber et al., *AIDS* 8:49-57 (1994a); Weber et al. *J. Infect. Dis.* 169:1138-1141 (1994b); Vago et al., *J. Acquir. Imm. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 12:139-146 (1996)). En los casos con una sospecha clínica alta de PML y unos resultados CSF negativos, la repetición de la prueba a menudo conduce la detección de ADN viral de JC. Como tal, el análisis PCR de los CSF para el ADN viral de JC ha crecido para ser el método preferido para confirmar el diagnóstico de PML.

[0100] Los pacientes de PML no tratados tienen una tasa de mortalidad del 30% al 50% durante los primeros tres meses (Koralnik, *Curr. Opt. Neurol.* 17:365-370 (2004)). Antes de la introducción del tratamiento antiretroviral altamente activo (HAART) para VIH, aproximadamente el 10% de los pacientes con PML sobrevivía por más de un año. Sin embargo, desde el advenimiento del HAART, aproximadamente el 50% de los pacientes con PML sobreviven durante más de un año debido al restablecimiento de la función inmune en razón a que los conteos CD4 se incrementan como resultado del síndrome inflamatorio de reconstitución inmune (Geschwind et al., *J. Neurovirol.* 7:353-357 (2001); Berger et al., *Ann. Neurol.* 44:341-349 (1998); Clifford et al., *Neurology* 52:623-625 (1999); Tantisriwat et al., *Clin. Infect. Dis.* 28:1152-1154 (1999)).

[0101] Habitualmente, no se establece tratamiento de fármaco para PML. Se han probado varios medicamentos, incluyendo aciclovir, idoxuridina, vidarabina, amantadina, adenina, arabinósido, citosina arabinósido (citarabina), cidofovir, interferón α , interleuquina-2 (IL-2), zidovudina, camptotecina, y topotecan

(Koralink, *Curr. Opt. Neurol.* 17:365-370 (2004); Dworkin et al., *Curr. Clin. Top. Infect. Dis.* 22:181-195 (2002); Seth et al., *J. Neurovirol.* 9:236-246 (2003); Collazos, *CNS Drugs* 17:869-887 (2003); Mamidi et al., *J. Neurovirol.* 8:158-167 (2002); Przepiorka et al., *Bone Marrow Transplant*; 20:983-987 (1997); Redington et al., *Arch. Neurol.* 59:712-718 (2002); Padgett et al., *Prog. Clin. Biol. Res.* 105:107-117 (1983)). Sin embargo, la supervivencia de los pacientes con PML parece estar mejor correlacionada con la reconstitución inmune. En pacientes con trasplantes con PML, la reducción temprana de la dosis y/o la discontinuación de la terapia inmunosupresora se asoció con resultados clínicos favorables después de diagnóstico de PML (Crowder et al., *Am. J. Transplant* 5:1151-1158 (2005); Shitrit et al., *Transpl. Int.* 17:658-665 (2005)).

Virus JC (JCV)

[0102] El JCV es un miembro de la clase de poliomavirus humano, que pertenece a la familia de Papovaviridae de virus pequeños, no recubiertos con un genoma de cadena de ADN doble circular cerrado. Los poliomavirus se pueden distinguir de los papilomavirus en virtud de su tamaño de virión más pequeño y el diferente tamaño genómico y organización. Los poliomavirus son de naturaleza ubicua y se puede aislar de un número de especies. El JCV se aisló primero del tejido del cerebro de un paciente con leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML). El JCV comparte el 75% de la homología de la secuencia de nucleótido con el poliomavirus humano BK (BKV), que se aisló de la orina de un paciente con trasplante renal con estenosis uretral post-operatoria. El BKV y el JCV comparten cada uno el 70% de homología con SV40. Los dos no son serológicamente de reactividad cruzada y las pruebas serológicas para los anticuerpos con capaces de distinguir entre el BKV y el JCV (Demeter, en Mandell et al., eds., Mandell,

Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406).

[0103] La infección de JCV es usualmente subclínica, es casi universal, ocurre en la niñez, y persiste durante la vida. Se estima que el 60-80% de los adultos en Europa y en los Estados Unidos tienen anticuerpos para JCV y que el 50% de los adultos jóvenes en el rango de edad de los 30-39 años se han infectado con JCV. El JCV y BKV se cree que circulan independientemente. Se ha propuesto que el JCV establezca infecciones latentes en el riñón y/o en el SNC después de la infección primaria (Demeter, en Mandell et al., eds., Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406). Durante la inmunosupresión, se ha postulado que el JCV latente se reactive en el riñón, lo cual puede conducir a una viruria. Aunque la viruria puede tener algún valor predictivo para PML, en razón a que esto no ocurre en la mayoría de los casos PML, la medición del JCV en la orina sola no es suficiente para diagnosticar JCV.

[0104] Cuando el JCV viaja a través del torrente sanguíneo al cerebro, éste puede atacar las células que producen mielina. La infección resultante en el cerebro produce síntomas neurológicos que pueden incluir ataxia, pérdida de función cognitiva, pérdida visual, cambios en el balance y coordinación, y pérdida de sensación. La muerte ocurre comúnmente a los dos años luego del diagnóstico.

[0105] Ninguna terapia antiviral específica se ha efectiva para JCV, y el tratamiento habitual de pacientes inmunocomprometidos son principalmente soportados y pretenden reducir la inmunosupresión. El cidofovir es habitualmente estudiado como una opción de tratamiento para pacientes con trasplante, y se

puede utilizar citarabina en el tratamiento de PML, aunque existe habitualmente datos de conflicto con relación a la eficacia del último (Demeter, en Mandell et al., eds., Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edition, Vol. 2. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995:1400-1406; Salmaggi, *Neurol. Sci.* 22:17-20 (2001)).

[0106] El receptor celular para JCV se ha reportado por ser el receptor 5HT2(A) de serotonina (Elphick et al., *Science* 306:1380-1383 (2004)). *In vitro*, los medicamentos antipsicóticos clorpromazina y clozapina mostraron que bloquean el receptor 5HT2(A) de serotonina y bloquean la entrada de células JCV. Desafortunadamente, sin embargo, la clorpromazina y la clozapina tienen tales efectos colaterales significativos y toxicidades, por ejemplo, síntomas extrapiramidales y la posibilidad de discrasias de médula ósea que ellas pueden ser problemáticas de utilizar químicamente. La invención suministra los antipsicóticos atípicos más nuevos, tales como la zisprasidona, risperidona, y olanzapina – medicinas con muchos mejores efectos colaterales y perfiles de toxicidad que los antipsicóticos más viejos – son antagonistas del receptor 5HT2(A) significativamente más potentes *in vitro* que la clorpromazina y la clozapina.

[0107] Una amplia variedad de pruebas serológicas están disponibles para detectar JCV, por ejemplo, la fijación de complemento (CFT), la inhibición de la hemaglutinación (HAI), el inmunoensayo ligado a enzima (EIA), el radioinmunoensayo (RIA), la aglutinación de partícula, la inmunofluorescencia (IF), la hemólisis radial simple, y la electro transferencia Western. La sensibilidad y especificidad varían grandemente entre diferentes técnicas. La mayoría de las técnicas detectará todas las clases de anticuerpo, mientras que algunos ensayos,

por ejemplo, RIA, EIA, e IF se pueden diseñar para detectar una clase específica, por ejemplo, IgM, IgG, o IgA.

La Selección del Paciente con Base en la Seguridad y Eficacia

[0108] La selección apropiada del paciente ayuda a maximizar el perfil de beneficio-riesgo del natalizumab. El natalizumab ha demostrado eficacia en el tratamiento de pacientes no tratados con discapacidad media o moderada (EDSS 0 a 5.0) con actividad de enfermedad clínica resiente (por ejemplo, una recaída en el año anterior al entrar al estudio). Se ha demostrado también eficacia en pacientes con discapacidad media a moderada con una actividad de enfermedad continua a pesar del tratamiento con interferón β (por ejemplo, una recaída en el año anterior al entrar al estudio, aunque recibiendo AVONEX®).

[0109] La proporción beneficio/riesgo es alterada en otras ciertas poblaciones de pacientes. Los pacientes sin evidencia de recaída de la enfermedad, esto es, sin evidencia de actividad inflamatoria clínicamente o mediante MRI, tal como aquellos con una enfermedad inactiva relativamente "benigna", o formas crónicas progresivas de MS, se excluyeron de los ensayos fase 3, así, el natalizumab no se ha evaluado completamente en estas cohortes. El beneficio-riesgo también se altera en pacientes con un evento clínico único sin características que sugieran el MS.

[0110] Pacientes que son clínicamente estables en terapia habitual también tienen una proporción beneficio/riesgo alterada. Si las preocupaciones por seguridad o la tolerabilidad existen en el tratamiento habitual, o los estudios de imágenes indican enfermedad subclínica inflamatoria activa, el tratamiento con

natalizumab sería apropiado. Al considerar la proporción beneficio-riesgo, se debe considerar si el paciente ha sufrido previamente de reacción de hipersensibilidad o ha desarrollado anticuerpos persistentes al natalizumab. La redosificación del natalizumab luego de la reacción de hipersensibilidad no se evaluó en los ensayos de fase 3. Los anticuerpos persistentes contra el natalizumab conducen a la pérdida de eficacia y a un incremento en los efectos colaterales relacionados con la infusión. Los pacientes que están inmunocomprometidos por alguna causa, incluyen el uso de medicamentos inmunosupresores que tienen un factor de riesgo independiente para PML y otras infecciones oportunistas y no deben recibir natalizumab.

[0111] Otro criterio para la selección de pacientes es una lista de revisión de pre-infusión utilizada por la enfermera de infusión para facilitar la detección temprana del PML y minimizar el uso inapropiado del natalizumab. La lista de revisión incita a la enfermera a preguntarle al paciente a cerca de los síntomas neurológicos que empeoran continuamente que han persistido durante varios días, por ejemplo, declinación nueva o súbita del pensamiento, visión, balance, o resistencia. Si el paciente reporta tener cualquier síntoma descrito por la lista de revisión, la enfermera está instruida de no administrar natalizumab y referirse al paciente o a su médico.

[0112] Esta lista de revisión también establece que el paciente que recibirá natalizumab durante el tratamiento de recaída del MS, no ha estado nunca diagnosticado con PML, y no está concurrentemente experimentando ningunos síntomas de empeoramiento continuos que han persistido durante varios días. Si las certidumbres adicionales de que el paciente no se conoce por sufrir de VIH o una malignidad hematológica, ni ha tenido ningún trasplante de órgano. Esto

confirma que el paciente no está recibiendo concurrentemente tratamiento con anti-neoplásicos, inmunomoduladores, o agentes inmunosupresores y que el paciente ha leído el panfleto de información de pacientes de natalizumab.

[0113] Objetos y ventajas adicionales de la invención se establecerán en parte en la descripción que sigue, y en parte será obvia de la descripción, o se puede aprender mediante la práctica de la invención. Los objetos y ventajas de la invención se concretarán y lograrán por medio de los elementos y combinaciones particularmente puntualizadas en las reivindicaciones finales. Más aún, las ventajas descritas en el cuerpo de la especificación, sin no está incluida en las reivindicaciones, no son per se limitaciones a la invención reivindicada.

[0114] Se debe entender que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada solo son de ejemplo y explicación y no restringen la invención, tal como se reivindica. Más aún, se debe entender que la invención no está limitada a las modalidades particulares descritas, como tales, pueden por supuesto, variar. Adicionalmente, la terminología utilizada para describir las modalidades particulares no pretende ser limitante, en razón a que el alcance de la presente invención estará limitada solamente por sus reivindicaciones. Las reivindicaciones no comprenden modalidades en el dominio público.

[0115] Con respecto a los rangos de valores, la invención comprende cada valor intercalado entre los límites superior e inferior en el rango de por lo menos un décimo de la unidad límite inferior, a menos que el contexto claramente indique otra cosa. Además, la invención comprende cualquier otro valor intercalado establecido. Más aún, la invención también comprende rangos que excluyen uno o

ambos de los límites superior e inferior del rango, a menos que se excluya específicamente del rango establecido.

[0116] A menos que se defina de otra manera, los significados de todos los términos técnicos y científicos utilizados aquí son aquellos comúnmente entendidos por un experto en la técnica a la cual pertenece la invención. un experto en la técnica también apreciará que cualquiera de los métodos y materiales similares o equivalentes a aquellos descritos aquí también se pueden utilizar para practicar o probar la invención. La especificación es más completamente entendida a la luz de las referencias citadas aquí.

[0117] Se debe notar que, como se utiliza aquí en las reivindicaciones finales, las formas singulares “un”, “o”, y “el” incluyen las referencias plurales a menos que el contexto claramente dicte otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a “un polipéptido objeto” incluye una pluralidad de tales polipéptidos y la referencia a “el agente” incluye la referencia a uno o más agentes y a equivalentes de éstos conocidos por aquellos expertos en la técnica, y así sucesivamente.

[0118] Además, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, % de pureza, longitudes de polipéptido y polinucleótido, y así sucesivamente, utilizados en la especificación y reivindicaciones, se modifican por el término “aproximadamente”, a menos que se indique otra cosa. De acuerdo con esto, los parámetros numéricos establecidos en la especificación y reivindicaciones son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas de la presente invención. A lo menos, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debe por lo menos ser considerado a

la luz del número de dígitos significativos reportados, aplicando técnicas de redondeamiento ordinario. Sin embargo, los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se reportan tan precisamente como sea posible. Cualquier valor numérico, sin embargo, contiene inherentemente ciertos errores de las desviaciones estándar de su medición experimental.

Ejemplos

[0119] Los ejemplos, que pretenden ser simplemente ejemplos de la invención y deben por lo tanto no considerarse como límite de la invención de ninguna manera, también describen y detallan aspectos y modalidades de la invención discutidos anteriormente. Los ejemplos no pretenden representar que los experimentos de adelante sean todos o solamente los experimentos desarrollados. Se han hecho esfuerzos para asegurar la precisión con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero algunos errores y desviaciones experimentales se deben tener en cuenta. A menos que se indique otra cosa, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura es en grados Centígrados, y la presión es la presión atmosférica o cercana a ésta.

Ejemplo 1: Eficacia del Natalizumab

[0120] La eficacia del natalizumab durante el período de dos años se ha demostrado en dos ensayos de fase 3 (Polman et al., *N. Engl. J. Med.* in press (2006); Rudick et al., *N. Engl. J. Med.* in press (2006)). En un estudio, el natalizumab se dio como monoterapia a pacientes MS sin tratamiento y su eficacia se comparó con el placebo. En el otro estudio, el natalizumab se dio a pacientes

que experimentaron recaídas a pesar de la terapia AVONEX[®] concurrente y su eficacia se comparó con aquella del AVONEX[®] (interferón β) más el placebo. Los datos a través de dos años han confirmado el beneficio que conduce a la aprobación acelerada en un año. Estos datos muestran que el natalizumab es altamente eficaz para retrasar el tiempo de inicio de la progresión sostenida de discapacidad, en reducir la tasa de recaída anualizada, en atenuar las lesiones MRI, y en mejorar la calidad de vida de los pacientes comparado con el placebo y el grupo de control de AVONEX[®] activo.

[0121] Ambos estudios de fase 3 tuvieron diseños similares. En el estudio de monoterapia, 942 pacientes con recaída de MS remitentes no tratados se aleatorizaron para recibir natalizumab o placebo durante 120 semanas (30 infusiones) utilizando una proporción 2:1. En el estudio agregado, 1,171 pacientes que habían recibido inyecciones intramusculares semanalmente de 30 μ g AVONEX[®], pero que habían recaído a pesar de este tratamiento, se aleatorizaron utilizando una proporción 1:1 para agregar natalizumab o placebo a su régimen, también durante 120 semanas.

[0122] Los parámetros de eficacia incluyeron calificaciones EDSS, recaídas de MS, exploraciones de MRI del cerebro, calificaciones de MSFC, pruebas de función visual, y calidad de vida. El EDSS y el MSFC se midieron cada 12 semanas, las exploraciones MRI del cerebro y la calidad de los cuestionarios de vida en la línea base y cada año, y las recaídas de MS sobre una base progresiva.

[0123] El tratamiento con natalizumab como monoterapia en pacientes sin tratamiento tuvo efectos profundos en el tiempo de inicio de la progresión sostenida y en la discapacidad y en la tasa de recaída anualizada, los dos puntos

165

finales primarios, como se muestra en la Tabla 2. Estos efectos significativos se confirmaron versus el AVONEX® solo.

• Tabla 2. Eficacia de Natalizumab en Estudios de Fase 3

	• <u>Monoterapia</u>		• <u>Terapia agregada</u>	
	• Placebo	• Natalizumab 300 mg	• AVONEX + placebo	• AVONEX + natalizumab 300 mg
• Número de pacientes	• 315	• 627	• 582	• 589
• Porcentaje de pacientes con progresión sostenida de discapacidad	• 29%	• 17%	• 29%	• 23%
• Proporción de riesgo (95% intervalo de confianza)	• 0.58 (0.43, 0.77)		• 0.76 (0.61, 0.96)	
• Reducción de riesgo	• 42%		• 24%	
• Valor p	• p<0.001		• P=0.024	
• Tasa de recaída anualizada	• 0.733	• 0.235	• 0.749	• 0.336
• Reducción relativa	• 68%		• 55%	
• Valor p	• p<0.001		• p<0.001	

[0124] La población de pacientes en los dos estudios de Fase 3 fueron pacientes de MS con recaída de acuerdo con los criterios del Panel Internacional sobre el Diagnóstico de Esclerosis Múltiple (McDonald et al. *Ann, Neurol.* 50:121-127 (2001)). Ésta comprende un amplio rango de edades y severidad de la enfermedad, y representó la población MS con recaída habitual con la enfermedad activa, consistente con la indicación aprobada. Los pacientes con MS progresiva primaria o secundaria se excluyeron.

[0125] Las poblaciones de pacientes objetivo para los dos estudios difirieron. Los pacientes en el estudio de monoterapia fueron esencialmente aquellos sin tratamiento con un fármaco inmunomodulatorio para MS. Específicamente, los pacientes pueden haber no tenido tratamiento con ningún inmunomodulador (interferón β o acetato de glatirámero) durante un período mayor de seis meses y no a los seis meses del inicio del estudio. El resultado fue una población de MS joven, principalmente femenina con un grado moderado de actividad de la enfermedad en línea base (típico de la población MS en general), muy pocas de las cuales habían probado otro inmunomodulador antes de la entrada en estudio.

[0126] Los pacientes en el estudio de terapia agregada requirió haber recibido AVONEX® durante el año previo y haber tenido una recaída durante ese momento mientras estuvo en tratamiento con AVONEX®. Esto dio como resultado una población un poco más vieja que aquella en el estudio de monoterapia, con una duración mayor de la enfermedad. Sin embargo, los pacientes en el estudio de terapia agregada tuvieron un grado similar de actividad de la enfermedad que aquellos en el estudio de monoterapia, a pesar del tratamiento con AVONEX®.

REIVINDICACIONES

1. Un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab que comprende:

- (a) administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis;

- (b) monitorear la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis;

- (c) determinar una segunda dosis de natalizumab con base en el nivel de natalizumab bivalente observado; y

- (d) administrar una segunda dosis de natalizumab durante un segundo período de dosis;

en donde la segunda dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento durante el segundo período de dosis.

2. El método de la reivindicación 1, en donde si el monitoreo muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima del nivel predeterminado durante el primer período de dosis, y en donde la dosis corregida de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis se designa para lograr una reducción en el nivel de natalizumab durante el segundo período de dosis para

disminuir el nivel predeterminado durante por lo menos una porción del segundo período de dosis.

3. El método de la reivindicación 2, en donde la segunda dosis es inferior que la primera dosis.
4. El método de la reivindicación 2, en donde el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis.
5. El método de la reivindicación 2, en donde la dosis corregida es inferior que la primera dosis, y en donde el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis.
6. El método de la reivindicación 2, en donde la primera dosis es de 300 mg administrada mediante infusión IV y el primer período de dosis es cuatro semanas.
7. El método de la reivindicación 6, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo período de dosis es más de cuatro semanas.
8. El método de la reivindicación 6, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.5 $\mu\text{g/ml}$, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo período de dosis es más de cuatro semanas.

9. El método de la reivindicación 6, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.1 $\mu\text{g/ml}$, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo período de dosis es más de cuatro semanas.
10. El método de la reivindicación 1, en donde la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente cae por debajo de un nivel predeterminado durante el primer período de dosis dentro de un tiempo predeterminado después de la administración de la primera dosis, y en donde la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis se diseña para mantener el nivel de natalizumab por encima del nivel predeterminado.
11. El método de la reivindicación 1, en donde la enfermedad es esclerosis múltiple.
12. El método de la reivindicación 1, en donde la enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino o artritis reumatoide.
13. El método de la reivindicación 1, que comprende además monitorear al paciente para indicadores de infección seria y/o tratar al paciente con la profilaxis diseñada para reducir el riesgo de desarrollar infección seria.
14. El método de la reivindicación 1, que comprende además monitorear al paciente para indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva.

15. El método de la reivindicación 14, en donde el monitoreo detecta JCV en la orina, sangre, y/o fluido cerebroespinal del paciente.
16. El método de la reivindicación 14, en donde el monitoreo comprende ensayar por síntomas clínicos y/o radiológicos de leucoencefalopatía multifocal progresiva.
17. El método de la reivindicación 14, que comprende además, en la presencia de indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva, suministrar por lo menos un tratamiento seleccionado de terapia de inmunoglobulina intravenosa, plasmaféresis, y terapia antiviral.
18. El método de la reivindicación 14, en donde el paciente no se trata simultáneamente con natalizumab y un agente inmunosupresor o antineoplásico.
19. Un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab que comprende:
 - (a) determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente;
 - (b) determinar una dosis y un período de dosis de natalizumab con base en la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente.
 - (c) Administrar la dosis de natalizumab al paciente durante el período de dosis;

en donde la dosis y el período de dosis mejoran la seguridad y/o eficacia del tratamiento comparado con la seguridad y/o eficacia suministrada por la dosis estándar y el período de dosis de natalizumab.

20. El método de la reivindicación 19, en donde la dosis estándar es de 300 mg mediante infusión IV y el período de dosis estándar es cada cuatro semanas.
21. El método de la reivindicación 20, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV.
22. El método de la reivindicación 20, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas.
23. El método de la reivindicación 20, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas.
24. El método de la reivindicación 20, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV.

25. El método de la reivindicación 20, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas.
26. El método de la reivindicación 20, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas.
27. El método de la reivindicación 19, en donde la enfermedad es esclerosis múltiple.
28. El método de la reivindicación 19, en donde la enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino o artritis reumatoide.
29. El método de la reivindicación 19, que comprende además monitorear al paciente para indicadores de infección seria y/o tratar al paciente con la profilaxis diseñada para reducir el riesgo de desarrollar infección seria.
30. El método de la reivindicación 19, que comprende además monitorear al paciente para indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva.
31. El método de la reivindicación 30, en donde el monitoreo detecta JCV en la orina, sangre, y/o fluido cerebroespinal del paciente.

32. El método de la reivindicación 30, en donde el monitoreo comprende probar para síntomas clínicos y/o radiológicos de leucoencefalopatía multifocal progresiva.
33. El método de la reivindicación 30, que comprende además, en la presencia de los indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva, suministrar por lo menos un tratamiento seleccionado de terapia de inmunoglobulina intravenosa, plasmaféresis, y terapia antiviral.
34. El método de la reivindicación 30, en donde el paciente no se trata simultáneamente con natalizumab y un agente inmunosupresor o antineoplásico.
35. Un método para utilizar natalizumab para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune que comprende:
- (a) determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente;
 - (b) administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis;
 - (c) monitorear el nivel del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis;
 - (d) determinar una segunda dosis y período de dosis de natalizumab con base en la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente y en el nivel del natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente; y

(e) administrar la segunda dosis de natalizumab para el segundo período de dosis;

en donde la segunda dosis y período de dosis mejoran la seguridad y/o eficacia del tratamiento.

36. El método de la reivindicación 35, en donde si el monitoreo muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima de un nivel predeterminado durante el primer período de dosis, y en donde la segunda dosis de natalizumab administrado durante el segundo período de dosis se diseña para lograr una reducción del nivel de natalizumab durante el segundo período de dosis para bajar el nivel predeterminado durante por lo menos una porción del segundo período de dosis.
37. El método de la reivindicación 36, en donde la primera dosis de natalizumab es de 300 mg administrada mediante infusión IV durante un primer período de dosis de cuatro semanas.
38. El método de la reivindicación 37, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 1 µg/ml.
39. El método de la reivindicación 37, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.5 µg/ml.
40. El método de la reivindicación 37, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.1 µg/ml.

41. El método de la reivindicación 37, en donde la dosis corregida es inferior que la primera dosis, o el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis, o la dosis corregida es inferior que la primera dosis y el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis.
42. El método de la reivindicación 35, en donde la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente cae por debajo de un nivel predeterminado durante el primer período de dosis dentro de un tiempo predeterminado después de la administración de la primera dosis, y en donde la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis está diseñada para mantener el nivel de natalizumab por encima del nivel predeterminado por lo menos hasta el momento predeterminado después de la administración de la segunda dosis durante el segundo período de dosis.
43. El método de la reivindicación 36, que comprende además monitorear al paciente para indicadores de infección seria.
44. El método de la reivindicación 43, en donde la infección seria es leucoencefalopatía multifocal progresiva.
45. El método de la reivindicación 36, que comprende además tratar al paciente con la profilaxis diseñada para reducir el riesgo de desarrollar infección seria.

46. El método de la reivindicación 45, en donde la infección seria es leucoencefalopatía multifocal progresiva.
47. El método de la reivindicación 37, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV.
48. El método de la reivindicación 37, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas.
49. El método de la reivindicación 37, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 200 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas.
50. El método de la reivindicación 37, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y la dosis determinada de natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV.
51. El método de la reivindicación 37, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$ y el período de dosis determinado es mayor cuatro semanas.
52. 50. El método de la reivindicación 37, en donde la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente está por debajo de 100 $\mu\text{g/ml}$, la dosis determinada de

natalizumab está por debajo de 300 mg mediante infusión IV, y el período de dosis determinado es mayor de cuatro semanas.

53. El método de la reivindicación 37, en donde la dosis estándar de natalizumab es de 300 mg de infusión IV y el período de dosis estándar es de cuatro semanas.
54. Un método para utilizar natalizumab para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune que comprende:
- (a) determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente antes de iniciar el tratamiento;
 - (b) iniciar el tratamiento del paciente con natalizumab en el evento de que la cantidad IgG4 en el plasma o suero del paciente esté por encima de un umbral predeterminado; y
 - (c) iniciar el tratamiento del paciente con natalizumab con monitoreo creciente por los indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva y/o infecciones oportunistas en el evento de que la cantidad IgG4 en el plasma o suero de los pacientes esté en o por debajo de un umbral predefinido;

en donde determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento.

55. El método de la reivindicación 54, en donde en el evento en que la cantidad de IgG4 en el plasma o suero de los pacientes esté en o por debajo del segundo umbral predefinido, el tratamiento no se inicia.
56. El método de la reivindicación 54, en donde el tratamiento se inicia si la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es de aproximadamente 200 µg/ml o mayor.
57. El método de la reivindicación 54, en donde el tratamiento se inicia si la cantidad de IgG4 en la sangre del paciente es de aproximadamente 100 µg/ml o mayor.
58. El método de la reivindicación 54, que comprende además
- (d) determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente durante el tratamiento; y
 - (e) terminar el tratamiento en el evento en que la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente esté por debajo de un umbral predefinido.
59. El método de la reivindicación 54, que comprende además
- (d) monitorear la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el tratamiento; y

- (e) terminar el tratamiento en el evento en que la cantidad de natalizumab bivalente esté por encima de un umbral predefinido.

60. El método de la reivindicación 58, que comprende además

- (f) monitorear la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el tratamiento; y
- (g) terminar el tratamiento en el evento en que la cantidad de natalizumab bivalente esté por encima de un umbral predefinido.

61. Un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab que comprende:

- (a) administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis;
- (b) monitorear la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis;
- (c) determinar una segunda dosis de natalizumab con base en el nivel de natalizumab bivalente observado;
- (d) administrar una segunda dosis de natalizumab durante un segundo período de dosis;

- (e) administrar la segunda dosis de natalizumab para uno o más segundos periodos de dosis posteriores;

en donde la segunda dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento durante el segundo periodo de dosis.

62. Un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab que comprende:

- (a) determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente;
- (b) determinar un periodo de dosis y dosificación de natalizumab con base en la cantidad IgG4 en el plasma o suero del paciente;
- (c) administrar la dosis de natalizumab al paciente durante el periodo de dosis; y
- (d) administrar la dosis de natalizumab al paciente durante uno o más periodos de dosis posteriores;

en donde la dosis y el periodo de dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento comparado con la seguridad y/o eficacia suministrada por la dosis estándar y el periodo de dosis de natalizumab.

63. Un método para utilizar natalizumab para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune que comprende:

- (a) determinar la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente;
- (b) administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis;
- (c) monitorear el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer período de dosis;
- (d) determinar una segunda dosis y período de dosificación de natalizumab con base en la cantidad de IgG4 en el plasma o suero del paciente y en el nivel de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente;
- (e) administrar la segunda dosis de natalizumab durante el segundo período de dosis;
- (f) administrar la segunda dosis de natalizumab durante uno o más segundos períodos de dosis;

En donde la segunda dosis y período de dosificación mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento.

MÉTODOS PARA TRATAR ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y
AUTOINMUNES CON NATALIZUMAB

RESUMEN

El Natalizumab es un tratamiento seguro y eficaz para enfermedades inflamatorias y auto-inmunes, tal como la esclerosis múltiple, la enfermedad de Crohn, y la artritis reumatoide. El intercambio de cadena entre el natalizumab y las moléculas de IgG4 actúa para reducir el nivel del natalizumab bivalente presente luego de la administración de natalizumab, y así para disminuir la actividad del natalizumab en el paciente. Las diferencias en los niveles del IgG4 en los pacientes o en un paciente único durante tiempo pueden cambiar el perfil farmacocinética del natalizumab. Los pacientes con niveles inferiores de IgG4 pueden experimentar mayores niveles de nadir del natalizumab durante un período de dosificación. El monitoreo del IgG4 y/o los niveles del natalizumab bivalentes, y determinar una dosis o período de dosis con base en el monitoreo puede mejorar la seguridad y/o eficacia de la terapia con natalizumab.

183

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 07/05265

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/395 (2007.01) USPC - 424/130.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC- 424/130.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC- 424/130.1 (text search) Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST (USPT, PGPB, EPAB, JPAB) and Google Patent/Scholar Search terms: IgG4, multiple sclerosis, PML, natalizumab, monovalent, bispecific																				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category*</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>US 2004/0009169 A1 (TAYLOR et al.) 15 January 2004 (15.01.2004) abstract, para [0012], [0014], [0046], [0108], [0111], [0115], [0125] and [0176].</td> <td>1-63</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>SCHUURMAN et al. Normal human immunoglobulin G4 is bispecific: it has two different antigen-combining sites. Immunology, 1999 Vol. 97, pages 693-698; abstract.</td> <td>1-63</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2006/0009385 A1 (HOFFMAN et al.) 12 January 2006 (12.01.2006) abstract, para [0006], [0007], [0012], [0019], [0029] and [0088].</td> <td>1-63</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>ENGELHARDT et al. Therapeutic targeting of alpha4-integrins in chronic inflammatory disease: tipping the scales of risk towards benefit? Eur J Immunology, 2005, Vol. 35, pages 2268-2273; abstract and p2271, col 1, ln 25-29.</td> <td>13-18,29-34, 43-46, 54-60</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>ALBRECHT et al. Highly active antiretroviral therapy significantly improves the prognosis of patients with HIV-associated progressive multifocal leukoencephalopathy, AIDS, 1998, Vol. 12, No. 10, pages 1149-1154; abstract, p1150, col 2, ln11-22 and p1150, col 2, ln 35-39.</td> <td>15-17, 31-33</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	US 2004/0009169 A1 (TAYLOR et al.) 15 January 2004 (15.01.2004) abstract, para [0012], [0014], [0046], [0108], [0111], [0115], [0125] and [0176].	1-63	Y	SCHUURMAN et al. Normal human immunoglobulin G4 is bispecific: it has two different antigen-combining sites. Immunology, 1999 Vol. 97, pages 693-698; abstract.	1-63	Y	US 2006/0009385 A1 (HOFFMAN et al.) 12 January 2006 (12.01.2006) abstract, para [0006], [0007], [0012], [0019], [0029] and [0088].	1-63	Y	ENGELHARDT et al. Therapeutic targeting of alpha4-integrins in chronic inflammatory disease: tipping the scales of risk towards benefit? Eur J Immunology, 2005, Vol. 35, pages 2268-2273; abstract and p2271, col 1, ln 25-29.	13-18,29-34, 43-46, 54-60	Y	ALBRECHT et al. Highly active antiretroviral therapy significantly improves the prognosis of patients with HIV-associated progressive multifocal leukoencephalopathy, AIDS, 1998, Vol. 12, No. 10, pages 1149-1154; abstract, p1150, col 2, ln11-22 and p1150, col 2, ln 35-39.	15-17, 31-33
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																		
Y	US 2004/0009169 A1 (TAYLOR et al.) 15 January 2004 (15.01.2004) abstract, para [0012], [0014], [0046], [0108], [0111], [0115], [0125] and [0176].	1-63																		
Y	SCHUURMAN et al. Normal human immunoglobulin G4 is bispecific: it has two different antigen-combining sites. Immunology, 1999 Vol. 97, pages 693-698; abstract.	1-63																		
Y	US 2006/0009385 A1 (HOFFMAN et al.) 12 January 2006 (12.01.2006) abstract, para [0006], [0007], [0012], [0019], [0029] and [0088].	1-63																		
Y	ENGELHARDT et al. Therapeutic targeting of alpha4-integrins in chronic inflammatory disease: tipping the scales of risk towards benefit? Eur J Immunology, 2005, Vol. 35, pages 2268-2273; abstract and p2271, col 1, ln 25-29.	13-18,29-34, 43-46, 54-60																		
Y	ALBRECHT et al. Highly active antiretroviral therapy significantly improves the prognosis of patients with HIV-associated progressive multifocal leukoencephalopathy, AIDS, 1998, Vol. 12, No. 10, pages 1149-1154; abstract, p1150, col 2, ln11-22 and p1150, col 2, ln 35-39.	15-17, 31-33																		
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐																				
<table border="0"> <tr> <td> * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family																			
Date of the actual completion of the international search 09 August 2007 (09.08.2007)		Date of mailing of the international search report 02 OCT 2007																		
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lea W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774																		

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 039/395	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) ELAN PHARMACEUTICALS, INC	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 60/779,190	(32) Fecha 03/03/2006	(33) País US
		(72) Inventor(es) THEODORE A. YEDNOCK	
		(74) Apoderado: EMILIO FERRERO	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 03/10/2008		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 13/09/2007
	Fecha de presentación de la solicitud: 02/03/2007		N° publicación: WO 2007/103112 A3
	No. de solicitud PCT/US2007/005265		
(54) Título: METODOS PARA TRATAR ENFERMEDADES INFLAMATORIAS Y AUTOINMUNES CON NATALIZUMAB			

Reivindicación(es):

1. Un método para tratar un paciente con una enfermedad inflamatoria o auto-inmune con natalizumab que comprende:

- (a) administrar una dosis de natalizumab durante un primer período de dosis;
 - (b) monitorear la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente durante el primer periodo de dosis;
 - (c) determinar una segunda dosis de natalizumab con base en el nivel de natalizumab bivalente observado; y
 - (d) administrar una segunda dosis de natalizumab durante un segundo período de dosis;
- en donde la segunda dosis mejora la seguridad y/o eficacia del tratamiento durante el segundo período de dosis.

2. El método de la reivindicación 1, en donde si el monitoreo muestra que la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente permanece por encima del nivel predeterminado durante el primer periodo de dosis, y en donde la dosis corregida de natalizumab administrada durante el segundo período de dosis se designa para lograr una reducción en el nivel de natalizumab durante el segundo periodo de dosis para disminuir el nivel predeterminado durante por lo menos una porción del segundo periodo de dosis.

3. El método de la reivindicación 2, en donde la segunda dosis es inferior que la primera dosis.

4. El método de la reivindicación 2, en donde el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis.

5. El método de la reivindicación 2, en donde la dosis corregida es inferior que la primera dosis, y en donde el segundo período de dosis es mayor que el primer período de dosis.

6. El método de la reivindicación 2, en donde la primera dosis es de 300 mg administrada mediante infusión IV y el primer periodo de dosis es cuatro semanas.

7. El método de la reivindicación 6, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 1 µg/ml, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado

mediante infusión IV y el segundo período de dosis es más de cuatro semanas.

8. El método de la reivindicación 6, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.5 µg/ml, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo período de dosis es más de cuatro semanas.

9. El método de la reivindicación 6, en donde el nivel predeterminado es de aproximadamente 0.1 µg/ml, y en donde la segunda dosis es de menos de 300 mg administrado mediante infusión IV y el segundo periodo de dosis es más de cuatro semanas.

10. El método de la reivindicación 1, en donde la cantidad de natalizumab bivalente en el plasma o suero del paciente cae por debajo de un nivel predeterminado durante el primer período de dosis dentro de un tiempo predeterminado después de la administración de la primera dosis, y en donde la segunda dosis de natalizumab administrada durante el segundo periodo de dosis se diseña para mantener el nivel de natalizumab por encima del nivel predeterminado.

11. El método de la reivindicación 1, en donde la enfermedad es esclerosis múltiple.

12. El método de la reivindicación 1, en donde la enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino o artritis reumatoide.

13. El método de la reivindicación 1, que comprende además monitorear al paciente para indicadores de infección seria y/o tratar al paciente con la profilaxis diseñada para reducir el riesgo de desarrollar infección seria.

14. El método de la reivindicación 1, que comprende además monitorear al paciente para indicadores de leucoencefalopatía multifocal progresiva.

15. El método de la reivindicación 14, en donde el monitoreo detecta JCV en la orina, sangre, y/o fluido cerebroespinal del paciente.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 900176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 73,474
 FECHA : SEPTIEMBRE 15 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-105676- -00000-0000

Fecha: 2008-10-03 16:09:13 Dep: 2020 NULCRACION
 Tra: 11 PATENTE IYII Eve: 378 FASLNACIONALI
 Act: 411 PRESENTACION Folios: 185

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	80756174	15/09/2008	56,624,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
	TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

 RESPONSABLE : _____
 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

COLO: 13170-841-006-6



No. 08-105676- -00000-0000

Fecha: 2008-10-03 16:09:13 Dep: 2020 NULCREACION
 Hoja: 11 PATENTE Y D. Dep: 378 FASE NACIONAL
 Act: 411 PRESENTACION Folios: 185

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION []

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Descripción de la invención []
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Sandra Rodríguez
 Firma Responsable

Fecha

Oct-3-08

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
 Conmutador: 3 82 08 40
 Fax: 350 52 20
 E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
 Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
ELAN PHARMACEUTICALS, INC.

REFERENCIA	Radicación No.	8 105676
	Solicitud internacional	PCT/US2007/005265
	Fecha inicio fase nacional	03/10/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

13266

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 17 OCT. 2008
jfernand