

REIVINDICACIONES

1. Un método para obtener células CAR-T anti-CD19 diseñadas, comprendiendo el método las etapas de:
 - Aislar las células inmunes;
 - poner en contacto la célula con un vector viral que comprende un ácido nucleico que codifica un receptor de superficie CAR anti-CD19; y
 - incubar la mezcla a una temperatura de alrededor de 34°C a alrededor de 39°C en una atmósfera que contiene alrededor de 1% a alrededor de 10% de CO₂, durante alrededor de 12 a alrededor de 36 horas.
2. El método de la reivindicación 1, en el que las células inmunitarias se aíslan de la sangre.
3. El método de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el vector viral se selecciona de vector retroviral recombinante, vector lentiviral recombinante, vector adenoviral recombinante y vector viral adenoasociado (AAV) recombinante.
4. El método de las reivindicaciones 1-3, en el que el vector viral comprende una molécula de ácido nucleico que codifica para CAR FMC63-28Z.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además pasos de crioconservación, siendo dichos pasos:
 - Lavar las células con una solución diluyente;
 - concentrar las células diseñadas;
 - diluir las células concentradas en una solución crioconservadora; y
 - congelar las células.
6. El método de la reivindicación 5, en el que la solución diluyente se selecciona de solución salina normal, solución salina al 0,9%, PlasmaLyte A, dextrosa al

5%/solución salina de NaCl al 0,45%, albúmina sérica humana (HSA) o una combinación de los mismos.

7. El método de la reivindicación 6, en el que la solución salina normal y la solución salina al 0,9% se complementan además con HSA al 5%.
8. El método de las reivindicaciones 5 a 7, donde la solución crioprotectora es CryoStor10.
9. El método de las reivindicaciones 5 a 8, en el que la solución crioprotectora se mezcla con las células diseñadas en una relación 1:1.
10. El método de las reivindicaciones 5 a 8, en el que la solución crioprotectora se mezcla con las células manipuladas en una relación 2:1.
11. El método de las reivindicaciones 5 a 10, que comprende además agregar HSA a una concentración final de aproximadamente 1-10%.
12. El método de las reivindicaciones 5 a 11, en el que la mezcla de crioprotección se almacena en nitrógeno líquido en fase de vapor.
13. El método de las reivindicaciones 5 a 12, en el que las células se congelan a una concentración de entre aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente $1,5 \times 10^7$ células/mL de mezcla de crioprotección.
14. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las células diseñadas se seleccionan de células T CD4+, CD8+, CD28+, CD45RA+ y CD45RO+.
15. Una composición farmacéutica que comprende las células obtenidas mediante el método de las reivindicaciones 1 a 14 en una cantidad de aproximadamente 10^4 a 10^{10}

células, y un vehículo, diluyente, solubilizante, emulsionante, conservante, excipiente y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

16. La composición farmacéutica de la reivindicación 15, que además comprende un agente terapéutico adicional.
17. La composición farmacéutica de la reivindicación 16, en la que el agente terapéutico adicional se selecciona de tocilizumab, esteroides, globulina antitimocito de conejo.
18. La composición farmacéutica de la reivindicación 16, en la que el agente terapéutico adicional se selecciona de vancomicina y aztreonam.
19. La composición farmacéutica de la reivindicación 16, donde el agente terapéutico adicional se selecciona de eritropoyetina, darbepoetina alfa, filgrastim, pegfilgrastim y siltuximab.
20. La composición farmacéutica de la reivindicación 16, en la que el agente terapéutico adicional es un inhibidor de CSF1.
21. La composición farmacéutica de la reivindicación 20, donde el inhibidor es un anticuerpo seleccionado de lenzilumab, namilumab, otilimab, KB002 y KB003 (KaloBios), micromet y nycomed, y gimsilumab.
22. La composición farmacéutica de la reivindicación 20, en donde el inhibidor se selecciona de:
 - 4-[[2-[[[(1R,2R)-2-hidrox ciclohexil]amino]-6-benzotiazolil]oxi]-N-metil-2-piridinacarboxamida,
 - PLX7486,

- N-(3-ciclopropil-1-((6-metilpiridin-2-il)metil)-1H-indazol-4-il)-7-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etoxi)imidazo[1,2-a]piridina-3-carboxamida,
 - 5-[(5-Cloro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-il)metil]-N-{{6-(trifluorometil)-3-piridinil}metil}-2-piridinamina,
 - 5-((5-cloro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-3-il)metil)-N-06-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)piridin-2-amina,
 - 5-[[3-Metoxi-4-[(4-metoxifenil)metoxi]fenil]metil]-2,4-pirimidinadiazina,
 - N-[4-[(6,7-dimethoxy-4-quinolinil)oxi]-2-metoxifenil]-N'-[1-(2-tiazolil)etil]urea, y
 - AC708 por Ambit Biosciences.
23. La composición farmacéutica de la reivindicación 16, en la que el agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico.
24. La composición farmacéutica de la reivindicación 23, donde el agente quimioterapéutico se selecciona de tiotepa, ciclofosfamida, busulfán, improsulfán, piposulfán, benzodopa, carbocina, meturedopa, uredopa, altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida, trimetilolomelamina, clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza uracilo, carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina, aclacinomisin, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, caliqueamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorrubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiomicina, puomicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato, fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina, ancitabina, azacitidina, 6-azauridina,

carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, 5-FU, calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona, aminoglutetimida, mitotano, trilostano, ácido frolínico, aceglatona, glucósido de aldofosfamida, ácido aminolevulínico, amsacrina, bestrabucil, bisantreno, edatraxato, defofamina, demecolcina, diaziquona, elformitina, acetato de eliptinio, etoglucid, nitrato de galio, hidroxiaurea, lentinan, lonidamina, mitoguazona, mitoxantrona, mopidamol, nitracrina, pentostatina, phenamet, pirarubicina, ácido podofilínico, 2-etilhidrazida, procarbazona, PSK®, razoxano, sizofiran, espirogermanio, ácido tenuazónico, triaziquona, 2, 2', 2' '- trichlorotrietilamina, uretano, vindesina, dacarbazina, manomustina, mitobronitol, mitolactol, pipobroman, gacitosina, arabinósido ("Ara-C"), ciclofosfamida, paclitaxel, doxetaxel, clorambucilo, gemcitabina, 6-tioguanina, mercaptopurina, metotrexato, cisplatino, carboplatino, vinblastina, platino, etopósido, ifosfamida, mitomicina C, mitoxantrona, vincristina, vinorelbina, navelbina, novantrone, tenipósido, daunomicina, aminopterina, xeloda, ibandronato, inhibidor de topoisomerasa RFS2000, difluorometilomitina, bexaroteno, alitretinoína, denileucina diftitox, esperamicinas, capecitabina, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

25. La composición farmacéutica de las reivindicaciones 15 a 24, donde la composición está en una bolsa de infusión y comprende 1×10^6 células suspendidas en 40 mL.
26. Un método para tratar linfoma de células del manto (MCL) o LLA de células B en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un producto de células T que comprende las células T autólogas que expresan un receptor de antígeno quimérico anti-CD19 (CAR) obtenidas por el método de las reivindicaciones 1 a 14.
27. Las células T autólogas que expresan un CAR anti-CD19 obtenidas por el método de las reivindicaciones 1 a 14, para su uso en un método para tratar el linfoma de células del manto (MCL) o LLA de células B.

28. El uso de las células T autólogas que expresan un CAR anti-CD19 obtenidas por el método de las reivindicaciones 1 a 14, en la fabricación de un medicamento para tratar linfoma de células del manto (MCL) o LLA de células B.
29. Un método para predecir:
- (i) respuesta objetiva de un sujeto a un tratamiento de células T CAR (opcionalmente, según el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles máximos de células T CAR y compararlos con un estándar de referencia, en el que la respuesta objetiva es positiva asociado con niveles máximos de células T CAR, en el que la respuesta objetiva incluye tanto la respuesta completa como la respuesta parcial, y en el que todas las respuestas se evalúan utilizando la clasificación de Lugano.
 - (ii) enfermedad residual mínima (por ejemplo, en la semana 4) en respuesta a un tratamiento de células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con el método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles máximos de células T con CAR y compararlos con una referencia estándar, en el que la enfermedad residual mínima negativa se asocia con niveles máximos de células T CAR más elevados.
 - (iii) CRS de grado ≥ 3 y / o eventos neurológicos (NE) de grado ≥ 3 en un sujeto que recibe tratamiento con células T CAR (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) que comprende medir la expansión máxima de células T CAR después de tratamiento y comparar los niveles con un valor de referencia, en el que cuanto mayor sea la expansión de células T CAR, mayor será la probabilidad de eventos de ER de grado ≥ 3 y / o de grado ≥ 3 NE.
 - (iv) CRS de grado ≥ 3 y / o grado ≥ 3 NE que comprende medir los niveles máximos de GM-CSF e IL-6 después del tratamiento con células T CAR (opcionalmente, de acuerdo con el método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) y comparándolos con un nivel de referencia, en el que cuanto mayor sea el nivel máximo de estas citocinas, mayor será la probabilidad de CRS de grado ≥ 3 y / o de grado ≥ 3 NE.

- (v) CRS de grado ≥ 3 en un sujeto que recibe tratamiento con células T con CAR (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) que comprende medir el nivel máximo de ferritina sérica después del tratamiento con células T CAR y compararlo con un nivel de referencia, en el que cuanto mayor sea el nivel máximo de ferritina, mayor será la probabilidad de CRS de grado ≥ 3 .
- (vi) CRS de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles máximos de IL-2 e IFN-gamma séricos después del tratamiento con células T CAR (opcionalmente, de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) y compararlos con un nivel de referencia, en el que el mayor el nivel máximo de IL-2 e IFN-gamma, mayor es la probabilidad de NE de grado ≥ 3 .
- (vii) CRS de grado ≥ 3 que comprende medir los niveles en el líquido cefalorraquídeo de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y / o molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) después del tratamiento con células T CAR (opcionalmente, de cualquier una de las reivindicaciones 1 a 28) y comparándolos con un nivel de referencia, en el que cuanto mayores sean los niveles en el líquido cefalorraquídeo de proteína C reactiva, ferritina, IL-6, IL-8 y / o molécula de adhesión de células vasculares (VCAM), la mayor probabilidad de NE de grado ≥ 3
- (viii) CRS de grado ≥ 3 después del tratamiento con células T CAR (opcionalmente, según un método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles séricos máximos de IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ferritina, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, granzima A, granzima B y / o perforina después del tratamiento CAR T anti-CD19 y comparando los niveles con los niveles de referencia, donde el pico niveles séricos de IL-15, IL-2 R α , IL-6, TNF α , GM-CSF, ferritina, IL-10, IL-8, MIP-1a, MIP-1b, granzima A, granzima B y / o perforina asociar positivamente con CRS grado ≥ 3 .

- (ix) CRS de grado ≥ 3 después del tratamiento con células T CAR de LLA de células B (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) que comprende medir el nivel sérico máximo de IL-15 después del tratamiento con CAR T anti-CD19 y comparar los niveles con los niveles de referencia, en los que el nivel sérico máximo de IL-15 se asocia negativamente con CRS de grado ≥ 3 .
- (x) CRS grado ≥ 3 y / o grado ≥ 3 NE post-tratamiento con células T CAR (opcionalmente, de acuerdo con un método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28) que comprende medir los niveles séricos máximos de IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b y granzima B después del tratamiento con CAR T anti-CD19 y comparando los niveles con los niveles de referencia, en los que los niveles séricos máximos de IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-10, MIP-1b y granzima B se asocian positivamente con CRS de grado ≥ 3 y NE de grado ≥ 3 .
- (xi) si un paciente va a tener ERM (sensibilidad 10-5) negativo a las 4 semanas / un mes después del tratamiento con células T CAR (opcionalmente, de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28), que comprende medir los niveles séricos máximos de IFN- γ , IL-6 y / o IL-2 después del tratamiento y comparando el nivel con un estándar de referencia, en el que los niveles séricos máximos de IFN- γ , IL-6 y / o IL-2 se asocian positivamente con ser MRD negativo en un mes.