



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 430**

51 Int. Cl.:
G01N 33/68 (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04761461 .5**
96 Fecha de presentación : **22.10.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1692516**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.08.2006**

54 Título: **Método de terapia.**

30 Prioridad: **24.10.2003 AU 2003905858**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.04.2011

73 Titular/es: **IMMUNAID Pty. Ltd.**
60-66 Hanover Street
Fitzroy, Victoria 3065, AU

72 Inventor/es: **Ashdown, Martin, Leonard**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 357 430 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método de Terapia

Campo de la Invención

5 Numerosas enfermedades se han ligado a la producción de células reguladoras. La presente invención se relaciona con la observación que el sistema inmune es cíclico en estas enfermedades. Con base en estas observaciones, se describen aquí métodos para tratar enfermedades tales como cáncer y una infección por VIH. La presente invención también se relaciona con métodos para determinar cuándo se debe administrar a un paciente una terapia que trata una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras.

Antecedente de la Invención

10 En el pasado, se han hecho intentos para activar el sistema inmune para montar una respuesta eficiente contra células malignas. A pesar de los progresos significativos y promisorios, tal una respuesta todavía no se ha alcanzado plenamente y muchas terapias con base inmune han resultado decepcionantes.

15 Numerosos estudios utilizando ensayos celulares in vitro demuestran que los linfocitos citotóxicos tienen la capacidad de matar células de tumor. Por qué está destrucción con base inmune no controla efectivamente el crecimiento de tumor in vivo es un enigma. El paciente con cáncer también ha incrementado la concentración de complejos inmunes circulantes, lo que indica que el sistema inmune está activo, particularmente contra ciertos antígenos de tumor. El nivel de estos complejos inmunes puede aumentar con el progreso de la enfermedad (Horvath et al, 1982; Aziz et al, 1998).

20 Las células reguladoras (también denominadas en la técnica como células supresoras) han estado implicadas en la respuesta inmune de los sujetos sensibles al cáncer (North and Awwad, 1990; WO 03/068257). Como la mayoría de los antígenos contra el cáncer son producidos actualmente por el paciente ellos son considerados como "auto" por el sistema inmune. Luego de la presencia, y/o cantidad incrementada, de antígeno de tumor, el sistema inmune del anfitrión monta una respuesta caracterizada por la producción de células efectoras que objetivan las células que producen el antígeno de tumor. Sin embargo, en muchos casos estas células efectoras son reconocidas por el sistema inmune como destinadas a las propias células anfitrionas, y por lo tanto se produce una población de células reguladoras para regular por descenso la población de células efectoras. Así, la producción de estas células reguladoras limita la capacidad del sistema inmune para remover efectivamente las células cancerígenas.

30 Más recientemente, se ha mostrado que las células reguladoras están involucradas en una respuesta inmune de los sujetos a una infección vírica. La WO 02/13828 describe la producción de células reguladoras durante la infección retrovírica, y métodos para tratar tales infecciones al regular por descenso la población de células reguladoras mientras que se mantiene la población de células efectoras. Adicionalmente, Peterson et al (2002) observa que en una población de células reguladoras CD4+ se suprime la capacidad de las células efectoras CD8+ para controlar infecciones de retrovirus de murino Friend en ratones.

35 Las mediciones de ciertas concentraciones de proteína de fase aguda en plasma puede ser de valor diagnóstico o pronóstico bajo condiciones clínicas específicas. La proteína de fase aguda mejor conocida es la proteína reactiva C (CRP). La CRP es una proteína de plasma que se eleva en la sangre con la inflamación de ciertas afecciones. El nivel de CRP en el plasma sanguíneo puede subir tan alto como 1000 veces con la inflamación. Las afecciones llevan comúnmente a cambios marcados en la CRP que incluyen infección vírica y bacteriana, trauma, cirugía, quemaduras, afecciones inflamatorias, enfermedad coronaria y vascular y cáncer avanzado.

40 Se sintetizan las proteínas de fase más aguda mediante hepatocitos, algunas se producen mediante otros tipos celulares, que incluyen monocitos, células endoteliales, fibroblastos y adipocitos. Las proteínas de fase aguda incluyen amiloide A de suero (SAA), CRP y componente amiloide P de suero (SAP).

45 La capacidad de respuesta inmediata de CRP y SAA para estimular, junto con su amplio rango de concentración y facilidad de medición automatizada, ha dado lugar a niveles de CRP y SAA en plasma que se utilizan monitorear exactamente la severidad de la inflamación y la eficacia de del manejo de la enfermedad durante ciertas condiciones de enfermedad.

50 La WO 03/070270 describe el uso de marcadores inflamatorios de fase aguda en regímenes para el tratamiento efectivo de VIH. Estos métodos se basan en por lo menos "reajustar" parcialmente el sistema inmune mediante un tratamiento tal como HAART seguido por el análisis de proteínas inflamatorias de fase aguda como marcadores para la expansión de célula efectora/reguladora. La emergencia de proteínas inflamatorias de fase aguda parece estar vinculado a la expansión de célula efectora, que ocurre antes de la expansión de la célula reguladora, y así el paciente se puede tratar con un agente adecuado que permite que se mantenga la población de células efectoras

mientras que destruye, evita la producción de, o reduce la actividad de, células reguladoras. En esencia, luego del retiro de tratamiento de HAART se considera que el sistema inmune de los pacientes podría tratar la re-emergencia de partículas de VIH como una nueva infección, y por lo tanto se podría producir una nueva población de células efectoras.

5 Sin embargo, de manera similar a la WO 03/070270, la WO 03/068257 se relaciona con por lo menos el reajuste parcial del sistema inmune, en este caso en el contexto del tratamiento de cáncer. De nuevo, el tratamiento se centra en la re-emergencia inicial de las células efectoras que sigue a una reducción en la carga de tumor a través de técnicas tales como cirugía o la administración de fármacos antiproliferativos.

10 Ninguna de la WO 02/13828, WO 03/070270 o WO 03/068257 aprecian que la respuesta inmune es cíclica en un paciente con cáncer o VIH independiente de la administración del tratamiento para estas enfermedades. La presente invención se basa en la realización de este ciclo

Resumen de la Invención

15 El presente inventor ha encontrado de forma sorprendente que el sistema inmune es cíclico durante los estados de enfermedad caracterizados por la presencia de células reguladoras. Este ciclo ocurre sobre una base regular de aproximadamente 14 a 15 días en humanos.

20 Aunque no se desea estar limitado por la teoría, parece que la expansión de la célula efectora contra un antígeno objetivo está seguido por la expansión de células reguladoras dirigidas contra las efectoras. Luego del control de las células efectoras por las células reguladoras los números y/o actividad de ambos tipos de células disminuye, lo que a su vez está seguido por el mismo ciclo debido a la presencia continua o remoción incompleta del antígeno que resulta en una persisten oscilación, pero inefectiva, la respuesta inmune contra, por ejemplo, el tumor o virus.

25 El conocimiento de este ciclo se puede utilizar para tratar enfermedades donde se sabe que la emergencia de células reguladoras es perjudicial para el paciente. Ejemplos de tales enfermedades incluyen cáncer y infecciones persistentes tales como por el virus de inmunodeficiencia humana. Más específicamente, el tratamiento de un paciente se puede programar de tal manera que se maximizan los números de células efectoras contra un antígeno celular o vírico mientras que se reducen o eliminan los números de células reguladoras.

30 De hecho, el presente inventor ha notado que el tratamiento de una amplia variedad de cánceres con fármacos antineoplásicos resulta, en promedio, en un índice de respuesta completo en el rango de 6.5 a 7%. Este rango de 6.5 a 7% es consistente con un ciclo de aproximadamente 14 a 15 días de expansión de célula efectora seguido por expansión de célula reguladora. Más específicamente, cuando no se toma en consideración el ciclo células efectoras y reguladoras, un médico tiene una oportunidad aproximada de 1 en 14.5 (6.8%) de administrar un fármaco anti-proliferativo cuando los números de células efectoras son altos pero los números de células reguladoras solo han comenzado a expandirse y por lo tanto son vulnerables a tratamientos que están dirigidos a las células en división. Esto lleva a altos números de células efectoras que objetivan las células cancerígenas, que resultan en una respuesta completa a la terapia.

35 De acuerdo con lo anterior, la presente invención proporciona métodos y usos como se define en las reivindicaciones adjuntas.

40 Se puede originar una infección mediante cualquier tipo de agente infeccioso tal como, pero no limitado a, un virus, bacterias, protozoos, nemátodo, prión, u hongo. Preferiblemente, el agente infeccioso origina infección persistente crónica caracterizada porque el sistema inmune del paciente no es capaz de eliminar el agente infeccioso. Ejemplos de agentes infecciosos que originan la infección persistente crónica son virus tales como el VIH y el virus de Hepatitis C.

45 Aunque no se desea estar limitado por la teoría, parece que como carga de antígeno, por ejemplo a partir del crecimiento de tumor incrementado o replicación vírica, aumenta luego que la actividad celular reguladora del sistema inmune de los pacientes responde en una forma similar a un primer tiempo de exposición al antígeno. Esta respuesta inmune incluye la producción de: marcadores inflamatorios de fase aguda tales como proteína reactiva c y amiloide A de suero.

50 Un momento apropiado para administrar el agente está entre cuando los niveles de marcador infamatorio de fase aguda han alcanzado el pico y antes que el marcador inicie la elevación en el siguiente ciclo. De acuerdo con lo anterior, un marcador de sistema inmune particularmente preferida es un marcador infamatorio de fase aguda. Más preferiblemente, el marcador infamatorio de fase aguda se selecciona de, pero no se limita a, el grupo que consiste de proteína reactiva c, amiloide A de suero y, amiloide P de suero.

Preferiblemente, el marcador del sistema inmune refleja el número y/o actividad de células reguladoras, y/o el número y/o actividad de células efectoras.

5 En una realización, se monitorea el paciente para un incremento en el número y/o actividad de células reguladoras mediante el análisis de los niveles de células CD4+ CD8-. Con respecto a esta realización, se prefiere que se administre el agente aproximadamente cuando se detecten las células T CD4+ CD8-.

En otra realización, se monitorea el paciente para un incremento en el número y/o actividad de células efectoras mediante el análisis de los niveles de células CD8+ CD4-. Con respecto a esta realización, se prefiere que se administre el agente aproximadamente cuando se ha alcanzado el pico los números de célula T CD8+ CD4-.

10 En otra realización, la molécula asociada con la enfermedad es un antígeno producido por una célula cancerígena o un agente infeccioso. En esta realización, se administra el agente aproximadamente cuando los niveles de la molécula asociada con la enfermedad empiezan a disminuir.

En una realización adicional, la enfermedad es cáncer y se monitorea el paciente para fluctuaciones en los niveles de antígeno de tumor. Con respecto a esta realización, se prefiere que se administre el agente aproximadamente cuando los niveles de antígeno de tumor empiecen a disminuir.

15 En todavía una realización, la enfermedad se origina por un agente infeccioso y se monitorea el paciente para fluctuaciones en los niveles de antígenos producidos por el agente infeccioso. Con respecto a esta realización, se prefiere que se administre el agente aproximadamente cuando los niveles de antígeno, u organismos infecciosos o virus (carga vírica), empiecen a disminuir.

20 En otra realización, el marcador del sistema inmune es la temperatura corporal. Con respecto a esta realización, se prefiere que se administre el agente cuando la temperatura ha alcanzado el pico y antes que la temperatura corporal se empiece a elevar en el siguiente ciclo.

25 Como se indica aquí, el presente inventor ha notado que las fluctuaciones en numerosos factores indican que el sistema inmune es cíclico en pacientes que sufren de una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras. Estos factores incluyen marcadores inflamatorios de fase aguda, antígenos víricos, antígenos contra el cáncer y temperatura corporal. Estos factores se ligan directamente o indirectamente, al estado general del sistema inmune que incluye, pero no se limita necesariamente a, producción de célula efectora y/o actividad, producción de célula reguladora y/o actividad, y/o producción de célula B y/o actividad.

30 La persona experta apreciará que las enfermedades tales como el cáncer y el SIDA tienen un efecto complejo en el paciente. Adicionalmente, variaciones naturales entre individuos ligados a factores tales como su genotipo, nutrición, estado físico, estado de enfermedad previo y actual, toda la influencia de cómo un individuo dado responde a un estado de enfermedad. Así, aunque en la mayoría de los casos el ciclo será aproximadamente 14 a 15 días, en algunos individuos este puede ser un poco más corto más largo. Adicionalmente, como el ciclo menstrual, la longitud del ciclo puede variar ligeramente en un individuo debido a la variación natural y/o factores ambientales. Así, la variación individual por lo menos se puede encontrar con respecto a, por ejemplo, i) la longitud del ciclo, ii) los números absolutos de las células efectoras o reguladoras durante el ciclo, o iii) los niveles de marcadores inflamatorios de fase aguda durante el ciclo. Tal variación se puede exagerar en pacientes con cáncer avanzado o infección, cuando se ha expuesto el sistema inmune de los mismos durante un periodo de tiempo considerable.

40 Como resultado, probablemente será más deseable monitorear el paciente durante un periodo de tiempo suficiente para asegurar que se conocen las dinámicas del ciclo del sistema inmune en un paciente particular. Preferiblemente, se monitorea el paciente durante un periodo de por lo menos 7 días, más preferiblemente por lo menos 14 días, más preferiblemente por lo menos 21 días, más preferiblemente por lo menos 28 días, más preferiblemente por lo menos 35 días, más preferiblemente por lo menos 42 días, y aún más preferiblemente por lo menos 49 días.

45 Otro factor de complicación es que por lo menos se ha encontrado que los niveles de algunos de los marcadores inflamatorios de fase se desplazan aproximadamente cada 7 días (aproximadamente la mitad de la longitud de un ciclo de sistema inmune "completo"). Así, parece que apoyarse en estos tipo de mercados mejorarán la oportunidad de tratamiento exitoso de aproximadamente 6.8% (con base en administración aleatoria del agente) a aproximadamente 50% (con base en la elección del tiempo de administración correcto al seleccionar aleatoriamente cuáles picos están ligados al tiempo apropiado para objetivar las células reguladoras). Si bien esto es una mejora en las técnicas actuales, se prefiere que se monitoreen tales marcadores en conjunto con otros factores (por ejemplo, una molécula asociada con la enfermedad, células reguladoras y/o células efectoras) para optimizar la oportunidad de seleccionar el tiempo apropiado para administrar el agente.

50 Así, en otra realización, se monitorea el paciente para un marcador infamatorio de fase aguda, y una molécula asociada con la enfermedad. Con respecto a esta realización, se administra el agente entre los niveles del marcador

infamatorio de fase aguda que han alcanzado el pico y antes que el marcador se empiece a elevar en el siguiente ciclo, y cuando los niveles de la molécula asociada con la enfermedad empiezan a disminuir o se podría haber predicho que empieza a disminuir con base luego del análisis previo de la molécula.

5 En general, se prefiere que se monitoreen numerosos factores al mismo tiempo. Esto es porque, debido a los factores descritos anteriormente, es poco probable que cada factor tenga un perfil de ciclo perfecto dentro de un periodo de 14/15 días, particularmente durante un número de ciclos, para proporcionar de forma rutinaria una indicación clara del tiempo apropiado para administrar el agente. Si bien el análisis de numerosos factores de un periodo largo puede ser costoso y puede tener por lo menos alguna inconveniencia al paciente, enfermedades tales como cáncer y SIDA amenazan la vida. Por lo tanto vale la pena entender tanto como sea posible con respecto al ciclo de sistema inmune en un paciente dado antes que se trate el paciente.

10 Adicionalmente, aunque el análisis de diferentes factores cíclicos en algunos pacientes puede resultar en perfiles complejos, dada la guía proporcionada aquí, está dentro de la experticia del médico para analizar los datos de monitoreo para determinar el tiempo óptimo para administrar el agente. Se proporciona aquí un ejemplo del análisis cuidadoso de múltiples factores para determinar el tiempo apropiado para tratar efectivamente una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras.

15 Un factor de complicación adicional será si el paciente ha adquirido recientemente una enfermedad o trauma no relacionado con aquel que se trata. Por ejemplo, un paciente que se trata para una infección de VIH también puede contraer el virus de la gripe común. La presencia del virus de la gripe resultará en, por ejemplo, un incremento en marcadores inflamatorios de fase aguda independientes del ciclo de aquellos marcadores que ocurren debido a la infección de VIH. Otras enfermedades que puede originar complicaciones en el monitoreo del ciclo de célula efectora/reguladora para uno en los métodos de la presente invención incluyen, artritis reumatoide, úlceras y enfermedad crónica de las encías. De acuerdo con lo anterior, es deseable monitorear al paciente para cualesquier factores que puedan resultar en niveles elevados de, por ejemplo, marcadores inflamatorios de fase aguda para asegurar que el factor que se monitorea refleja fielmente el ciclo de la célula efectora/reguladora que resulta de la enfermedad que se trata.

20 Adicionalmente, se prefiere que se monitoree al paciente tan frecuentemente como sea posible para asegurar que el ciclo del sistema inmune en un paciente dado se caracteriza de forma adecuada. Naturalmente esto asegurará que se administra el agente en el momento apropiado y que cualesquier pequeñas variaciones en, por ejemplo, los números de célula efectora/reguladora o actividad, o marcadores de los mismos, no se mal interpretan. Preferiblemente, se monitorea el paciente por lo menos cada 3 días, más preferiblemente por lo menos cada 2 días, y más preferiblemente por lo menos cada día. El monitoreo puede ocurrir más frecuentemente, por ejemplo cada 12 horas, cuando se alcanza el ciclo podría ser apropiada una etapa en donde es probable que sea el momento de administrar el agente.

30 El agente inhibe la producción de, limita la función de, y/o destruye, las células T reguladoras. El agente se selecciona del grupo que consiste de fármacos antineoplásicos tales como fármacos anti-proliferativos, radiación, dsARN y anticuerpos que inhiben la producción y/o actividad de células reguladoras. Preferiblemente, el fármaco anti-proliferativo se selecciona del grupo que consiste de, pero no se limita a, taxol, vincristina, vinblastina y vinblastina anhidra.

40 Con respecto al cáncer, en contraste con la terapia de fármaco antineoplásico típica que se administra a las células de tumor objetivo, el método de tratamiento descrito aquí actualmente objetiva las células reguladoras. Esto deja números adecuados de células efectoras para producir el efecto terapéutico deseado.

Ejemplos de anticuerpos preferidos incluyen, pero no se limitan a, anti-CD4+, anti-CTLA-4 (antígeno-4 asociado a linfocito citotóxico), anti-GITR (receptor del factor de necrosis de tumor inducido por glucocorticoide), anti-CD28 y anti-CD25.

45 Preferiblemente, no se ha expuesto el paciente a un tratamiento para la enfermedad durante por lo menos 14 días, más preferiblemente por lo menos 21 días, y aún más preferiblemente por lo menos 28 días.

50 El presente inventor también ha determinado que se puede mejorar el tratamiento para una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras (o se pueden incrementar las oportunidades de tratamiento exitoso) cuando se administra la vacuna en el momento apropiado. En estos casos, la vacuna estimula la respuesta inmune innata contra la enfermedad. Esto será probablemente un resultado de los números incrementados y/o actividad de células efectoras. Aunque teóricamente las células reguladoras serán producidas en última instancia, el estímulo del sistema inmune permite al paciente controlar de forma adecuada la enfermedad antes de la emergencia de las células reguladoras. Este escenario podría explicar que varios estudios previos han mostrado que las vacunas anti- VIH y anti-neoplásicas son solo exitosas en un pequeño número de pacientes. Más específicamente, hay solo una pequeña oportunidad en la que se administrará la vacuna en el mismo momento en el que ocurre la respuesta

inmune innata a la enfermedad. Otros momentos de administración en la técnica anterior ocurren cuando hay altos números y/o actividad de células reguladoras, o en momentos que no se acopla el ciclo natural del sistema inmune.

En una realización, se administra la vacuna aproximadamente cuando se incrementa los niveles de células efectoras.

- 5 En otra realización, se administra la vacuna aproximadamente cuando los niveles de una molécula asociada con la enfermedad empiezan a disminuir.

10 En una realización adicional, se administra la vacuna aproximadamente cuando los niveles de un marcador infamatorio de fase aguda se empiezan a incrementar. Como se señaló anteriormente, por lo menos se ha encontrado que algunos marcadores inflamatorios de fase aguda hacen el ciclo durante aproximadamente un periodo de siete días donde solo cada segundo pico de los niveles de marcador infamatorio de fase aguda se asocia con números de célula efectora. Así, en esta realización, el monitoreo probablemente necesitará ser combinado con el análisis de otros factores descritos aquí.

15 La observación que el sistema inmune es cíclico durante los estados de enfermedad caracterizados por la presencia de células reguladoras también se puede utilizar como un indicador de la presencia de tal una enfermedad. Estos procedimientos de diagnóstico podrían ser particularmente útiles para analizar un paciente para la recurrencia del estado de enfermedad (tal como un tumor) luego de tratamiento, o para analizar un paciente determinado por ser susceptible a la enfermedad (tal como en los casos en donde se ha identificado previamente que el sujeto posee un gen con susceptibilidad a cáncer) para la emergencia de la enfermedad.

20 También se describe aquí un método para diagnosticar una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras, el método comprende monitorear al paciente, o las muestras obtenidas del mismo, para por lo menos uno de : a) números y/o actividad de célula efectora, b) números y/o actividad de célula reguladora, c) una molécula asociada con la enfermedad, y/o d) un marcador del sistema inmune, en donde el ciclo de uno cualquiera de a) a d) indica que puede estar presente la enfermedad.

25 Naturalmente, como se señaló anteriormente, el paciente necesitará ser analizado para otros estados de enfermedad, tal como infecciones menores tales como influenza etc., para asegurar que cualquier ciclo observado (especialmente cuando se analizan marcadores inflamatorios de fase aguda) se liga directamente a una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras.

30 Aunque lo ideal es que el monitoreo debe continuar de forma indefinida, probablemente no se practicará más en la mayoría de las situaciones. Así, se puede desarrollar el procedimiento de diagnóstico sobre una base intermitente basada en el riesgo evaluado del estado de enfermedad que emerge o re-emerge. Como lo apreciará el experto a partir de las discusiones aquí, el término "base intermitente" significa que el método requerirá un número adecuado de muestras para ser analizadas durante un periodo de tiempo para determinar si ocurre el ciclo inmune.

35 (por ejemplo muestras obtenidas por lo menos cada 3 días durante un periodo de aproximadamente 14 días), sin embargo, si la prueba es negativa este procedimiento puede no necesitar ser repetido (por ejemplo) durante otro año.

También se describe aquí el uso de un ensayo que detecta un marcador del sistema inmune para determinar cuando un agente o vacuna se debe administrar a un paciente que sufre de una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras.

40 Preferiblemente, el marcador es un marcador infamatorio de fase aguda. Más preferiblemente, el marcador es un marcador infamatorio de fase aguda positivo. Aún más preferiblemente, el marcador se selecciona del grupo que consiste de, pero no se limita a, amiloide A de suero y proteína reactiva c.

También se describe aquí el uso de un ensayo que detecta números y/o actividad de célula efectora para determinar cuando un agente o vacuna se debe administrar a un paciente que sufre de una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras.

45 Preferiblemente, el ensayo detecta el número de células T CD8+ CD4-.

También se describe aquí el uso de un ensayo que detecta números y/o actividad de célula reguladora para determinar cuando un agente o vacuna se debe administrar a un paciente que sufre de una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras.

Preferiblemente, el ensayo detecta el número de células T CD4+CD8- .

También se describe aquí el uso de un ensayo que detecta una molécula asociada con una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras para determinar cuando un agente o vacuna se debe administrar para tratar la enfermedad.

Preferiblemente, el ensayo detecta un antígeno producido por una célula cancerígena o un agente infeccioso.

- 5 Preferiblemente, no se ha expuesto al paciente a un tratamiento para la enfermedad durante por lo menos 14 días, más preferiblemente por lo menos 21 días, y aún más preferiblemente por lo menos 28 días.

Como se podría apreciar fácilmente por aquellos expertos en la técnica, se pueden repetir los métodos para proporcionar un más completo tratamiento.

- 10 Preferiblemente, el paciente es un mamífero. Más preferiblemente, el mamífero es un humano. También se describe aquí un equipo para determinar cuando un agente o vacuna se debe administrar a un paciente que sufre de una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras, el equipo comprende por lo menos un reactivo para monitorear el paciente, o muestras obtenidas del mismo, para por lo menos uno de: a) números y/o actividad de célula efectora, b) números y/o actividad de célula reguladora, c) una molécula asociada con la enfermedad, y/o d) un marcador del sistema inmune.

- 15 Preferiblemente, el equipo comprende instrucciones escritas para desarrollar un método de la invención que incluye una referencia al número preferido de muestras a ser analizadas y el tiempo entre el análisis de las muestras.

Como será evidente, los rasgos y características preferidas de un aspecto de la invención son aplicables a muchos otros aspectos de la invención.

- 20 A través de esta especificación se entenderá que la palabra “comprenden”, o variaciones tales como “comprende” o “que comprende”, implica la inclusión de un elemento declarado, entero o etapa, o grupo de elementos, enteros o etapas, pero no la exclusión de ningún otro elemento, entero o etapa, o grupo de elementos, enteros o etapas.

La invención se describe aquí adelante por vía de los siguientes Ejemplos no limitantes y con referencia a las figuras acompañantes.

Breve Descripción de los Dibujos Acompañantes

- 25 Figura 1. A) proteína reactiva C y niveles CA125 de marcador de tumor durante un periodo de 14 días en un paciente con cáncer de ovario. B) niveles de amiloide A de suero en el mismo paciente durante el mismo periodo (Niveles de proteína reactiva c de A) duplicado).

Figura 2. Niveles de proteína reactiva C en respuesta a retirar a un primer paciente con VIH humano de un tratamiento HAART.

- 30 Figura 3. Carga vírica y fluctuaciones de CRP en un segundo paciente con VIH luego de la terminación de HAART.

Figura 4. Las fluctuaciones CRP y C4 en Señores OM durante 32 días muestran una periodicidad distinta con una repetición aproximada de 7/14 días de oscilación. Se toman las mediciones cada lunes, miércoles y viernes. En este caso la oscilación de C4 es más regular. Tenga en cuenta la tendencia al alza en ambos parámetros durante el periodo de 32 días.

- 35 Figura 5. Las fluctuaciones de C4 y C3 de los factores de Complemento de Suero en Señores OM durante 32 días muestra una periodicidad sincrónica y regular de aproximadamente 7/14 días. Tenga en cuenta la tendencia al alza en ambos parámetros durante el periodo de 32 días.

- 40 Figura 6. Las fluctuaciones de C4 de Factor de Complemento de Suero y los niveles de CA125 elevados con el avance de la enfermedad en señores OM. Tenga en cuenta la tendencia al alza en ambos parámetros durante el periodo de 32 días.

Figura 7. Proteína reactiva C versus Tiempo en Mrs OM, (días) Monitoreo y eventos terapéuticos, 28 de mayo 2004 (día 1) – 9 de agosto 2004 (día 74). Se inicia monitoreo CRP el 28 de mayo (día 1) y aumentando constantemente con el avance de la enfermedad. En aproximadamente el día 14 se deriva la oscilación de respuesta inmune a partir de la interpretación combinada de los datos recolectados de CRP, C4 & CA125 en suero (ver también la Figura 4).

- 45 Clave: A = Inicia la radioterapia, día 38, = 5 de julio 2004.

B = Pico de CRP predicho, día 46,47 & 48, = 13, 14, 15, de julio 2004.

C = Momento de primera aplicación de quimioterapia, día 49, 16 de julio 2004.

D = Pico PCR predicho, día 63 & 64, = 28, 29 de julio 2004. Se detiene la radioterapia.

E = Momento de 2da aplicación de quimioterapia, día 65, = 30 de julio 2004.

5 F = Fiebre, día 66, = 31 de julio 2004, Hemorragia de tumor, día 67, =1 de agosto 2004.

G = gotas de CRP para 62.7mg/l, día 69, = 4 de agosto 2004.

H = Endoscopia que no reporta ninguna evidencia de tumor, día 74, = 9 de agosto 2004.

Figura 8. Proteína C reactiva y amiloide A de suero versus tiempo en Señoras FO.

Figura 9. amiloide A de suero C y IL-2 versus tiempo en Señoras FO.

10 Figura 10. amiloide A de suero y CA125 de marcador de cáncer versus tiempo en Señoras FO.

Figura 11. Proteína C reactiva y C3 versus tiempo en Señoras FO.

Figura 12. Proteína C reactiva versus tiempo en Mrs GA

Descripción Detallada de la Invención

Definiciones

15 Como se utiliza aquí los términos “tratar”, “trata” o “tratamiento” incluye administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente suficiente para reducir o eliminar por lo menos un síntoma de la enfermedad.

Como se utiliza aquí, el término “carga de tumor” generalmente se refiere al número de células cancerígenas en un sujeto en cualquier momento dado. La medición del nivel de tumor antígeno en el sujeto se puede considerar como una indicación de carga de tumor.

20 Como se utiliza aquí, el término “carga vírica” generalmente se refiere al número de partículas víricas en un sujeto en cualquier momento dado. La medición del nivel de viral antígeno en el sujeto se puede considerar como una indicación de carga vírica.

25 “Células reguladoras” incluyen, pero no se limitan necesariamente a, una subpoblación de células T CD4+. Tales células también se pueden referir en la técnica como “células supresoras”. Las células reguladoras pueden actuar directamente sobre las células efectoras o pueden hacer valer sus efectos sobre las células efectoras a través de otros mecanismos.

Las células CD4+ expresan el marcador conocido en la técnica como CD4. Típicamente, el término “células T CD4+” como se utiliza aquí no se refiere a células que también expresan CD8. Sin embargo, este término puede incluir células T que también expresan otros marcadores antigénicos tales como CD25.

30 Las “células efectoras” incluyen, pero no se limitan necesariamente a, la población de célula T conocidas como células CD8+.

35 Como se utiliza aquí, el término “limita la función de, y/o destruye” cuando se refiere a la exposición de las “células reguladoras” al agente significa que el número, y/o actividad, de las células reguladoras es regulada en forma descendente por el agente. Más preferiblemente, el número, y/o actividad, de las células reguladoras se erradica completamente por el agente.

Como se utiliza aquí el término “enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras” se refiere a cualquier afección en donde el número o actividad de células reguladoras cumple una función en la prolongación del estado de enfermedad. La enfermedad es cáncer o una infección.

40 El término “marcador del sistema inmune” generalmente se refiere a cualquier molécula o factor que proporciona una indicación del estado y/o actividad del sistema inmune. Estos marcadores se pueden ligar directamente a la

actividad y/o producción de células reguladoras y/o efectoras, y/o pueden proporcionar una indicación más general de la respuesta total del sistema inmune a un antígeno. Ejemplos de un marcador adecuado del sistema inmune incluyen marcadores inflamatorios de fase aguda tales como proteína reactiva C y amiloide A de suero. Otro ejemplo de un marcador del sistema inmune es los indicadores de destrucción celular tales como, pero no limitados a, colesterol y beta -2-microglobulina en suero. El colesterol y la beta -2-microglobulina son componentes integrales de las membranas celulares. En particular, la beta -2-microglobulina es la molécula accesoria para la Histocompatibilidad Principal Clase I o receptor de MHC- I. Por consiguiente, con el ciclo de la respuesta inmune anti- enfermedad junto con la destrucción de la célula objetivo, a menudo se elevan los niveles de suero en los pacientes con cáncer de estas dos moléculas. Así, las oscilaciones en los indicadores de destrucción celular, tal como colesterol y beta -2-microglobulina, también puede resultar útil en determinar el inicio o el final del ciclo de respuesta inmune. Naturalmente, luego del presente descubrimiento del ciclo sistema inmune en una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras, el experto puede identificar fácilmente los marcadores adicionales útiles en los métodos de la invención.

Como se utiliza aquí, el término “una molécula asociada con la enfermedad” se refiere a cualquier molécula que se liga al estado de la enfermedad. En una realización preferida, el marcador es una proteína. Tales marcadores de proteína son bien conocidos en la técnica. Se describen aquí ejemplos de marcadores de antígeno de tumor adecuado. Los marcadores adecuados para, si no todas, las enfermedades infecciosas son también bien conocidas, por ejemplo las proteínas gag o env del VIH.

Como se utiliza aquí el término “infección persistente crónica” se refiere a la presencia de un agente infeccioso en el paciente que no se controla fácilmente por el sistema inmune del paciente o las terapéuticas disponibles. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, infecciones con *Mycobacterium tuberculosis* (que origina tuberculosis), VIH, el virus de Hepatitis B o el virus de Hepatitis C. Para ser clasificado como una “infección persistente crónica” se prefiere que el paciente tenga por lo menos la infección durante 3 meses, más preferiblemente por lo menos 6 meses.

Para los propósitos de esta invención, el término “anticuerpo”, a menos que se especifique lo contrario, incluye fragmentos de anticuerpos completos que retienen su actividad de unión para un analito objetivo. Tales fragmentos incluyen fragmentos Fv, F(ab') y F(ab')₂, así como también anticuerpo de cadena sencilla (scFv). Adicionalmente, los anticuerpos y fragmentos de los mismos pueden ser anticuerpos humanizados, por ejemplo como se describe en la EP-A-239400.

Como se conoce en la técnica, un cáncer se considera generalmente como crecimiento celular no controlado. Se pueden utilizar los métodos descritos para tratar cualquier cáncer que incluye, pero no se limita a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma, y leucemia. Ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de célula epidermoide, cáncer de célula microcítica, cáncer de célula macrocítica, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer colorrectal, cáncer cervical uterino, carcinoma de endometrio, carcinoma de glándula salival, mesotelioma, cáncer de riñón, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer de piel, melanoma, cáncer de cerebro, neuroblastoma, mieloma, varios tipos de cáncer de cabeza y cuello, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, sarcoma de Ewing y neuroepitelioma periférico.

La “muestra” se refiere a un material que se sospecha contiene células reguladoras, células efectoras, marcadores del sistema inmune y/o una molécula asociada con la enfermedad. Se puede utilizar la muestra como se obtiene directamente de la fuente o siguiendo por lo menos una etapa de purificación (parcial). Se puede preparar la muestra en cualquier medio convencional que no interfiere con el método de la invención. Típicamente, la muestra es una solución acuosa o fluido biológico como se describe en más detalle adelante. Se puede derivar la muestra de cualquier fuente, tal como un fluido fisiológico, que incluye sangre, suero, plasma, saliva, esputo, líquido de lente ocular, sudor, heces, orina, leche, líquido ascítico, líquido mucoso, sinovial, líquido peritoneal, exudados transdérmicos, exudados faríngeos, lavado broncoalveolar, aspiraciones traqueales, líquido cefalorraquídeo, semen, moco cervical, secreciones vaginales o uretrales, fluido amniótico, y similares. Preferiblemente, la muestra es sangre o una fracción de la misma. El pretratamiento puede involucrar, por ejemplo, preparar el plasma a partir de sangre, fluidos viscosos diluyentes, y similares. Los métodos de tratamiento pueden involucrar filtración, destilación, separación, concentración, inactivación de los componentes que interfieren, y la adición de reactivos. La selección y el pretratamiento de muestras biológicas antes de la prueba es bien conocida en la técnica y no se necesita describir adicionalmente.

A menos que se indique de otra forma, el ADN recombinante y las técnicas inmunogénicas utilizadas en la presente invención son procedimientos estándar, bien conocidos por aquellos expertos en la técnica. Tales técnicas se describen y explican a través de la bibliografía en fuentes tales como, J. Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning, John Wiley and Sons (1984), J. Sambrook et al, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbour Laboratory Press (1989), T.A. Brown (editor), Essential Molecular Biology: A Practical Approach, Volumes 1 y 2, IRL Press (1991), D.M. Glover y B.D. Hames (editores), ADN Cloning: A Practical Approach, Volumes 1-4, IRL Press (1995 y 1996), y F.M. Ausubel et al (editores), Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience (1988, including all updates until present), Ed Harlow y David Lane (editores) Antibodies: A

Laboratory Manual, Cold Spring Harbour Laboratory, (1988), y J.E. Coligan et al (editors) Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (que incluyen todas las actualizaciones hasta hoy), y se incorporan aquí como referencia.

Marcadores Inflamatorios de Fase Aguda

5 Algunos marcadores inflamatorios de fase aguda se incrementan inicialmente durante una respuesta inmune (referida aquí adelante como marcadores inflamatorios de fase aguda positivos) mientras que otros se reducen inicialmente durante una respuesta inmune (referida aquí adelante como marcadores inflamatorios de fase aguda negativos). Los marcadores inflamatorios de fase aguda se refieren en la técnica como reactivos de fase aguda o proteínas de fase aguda. El experto se dará cuenta de los muchos ensayos que se pueden utilizar para
10 monitorear marcadores inflamatorios de fase aguda.

Ejemplos de marcadores inflamatorios de fase aguda positivos incluyen, pero no se limitan a, proteína reactiva c, amiloide A de suero, componente amiloide P de suero, proteínas de complemento tales como inhibidor de C2, C3, C4, C5, C9, B, C1 y proteína de unión C4, fibrinógeno, factor von Willebrand, α 1-antitripsina, α 1-antiquimiotripsina, α 2-antiplasmina, cofactor heparina II, inhibidor I de activador de plasminógeno, haptoglobina,
15 hemopexina, ceruloplasmina, dismutasa de superóxido de manganeso, glucoproteína de α 1-ácido, hemo oxigenasa, proteína de unión de manosa, proteína leucocito I, lipoproteína (a), proteína de unión de lipopolisacárido, y interleucinas tales como IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 y receptores de las mismas.

Ejemplo de marcadores inflamatorios de fase aguda negativos incluyen, pero no se limitan a, albúmina, pre-albúmina, transferrina, apoAI, apoAII, glucoproteína α 2 HS, inhibidor de inter- α -tripsina, glucoproteína rica en
20 histidina.

Se descubre el amiloide A de suero (SAA) como un componente de plasma que comparte antigenicidad con el amiloide AA, el componentes fibrilar principal en los depósitos amiloides AA reactivos. La SAA ha mostrado que es un reactivo de fase aguda cuyo nivel en sangre es elevado a 100 veces o más como parte de las respuestas corporales a varias lesiones que incluyen trauma, infección e inflamación.

25 Se pueden determinar los niveles de SAA como se conoce en la técnica, ver por ejemplo Weinstein et al (1984), Liuzzo et al (1994), O'Hara et al (2000), Kimura et al (2001) y O'Hanlon et al (2002).

La proteína reactiva C (CRP) es una proteína de respuesta de fase aguda positiva importante y su concentración en suero puede incrementar tanto como 1,000 veces durante la respuesta de fase aguda. La CRP es un pentámero que consiste de cinco subunidades idénticas, cada una tiene un peso molecular de aproximadamente 23,500.

30 Se pueden determinar los niveles de proteína reactiva C utilizando técnicas conocidas en el arte, estas incluyen, pero no se limitan a, aquellas descritas en Senju et al (1983), Weinstein et al (1984), Price et al (1987), Liuzzo et al (1994), Eda et al (1998), Kimura et al (2001) y O'Hanlon et al (2002).

Las proteínas de complemento son un grupo de por lo menos 20 componentes inmunológicamente distintos. Ellos normalmente circulan en la sangre en una forma inactiva. Ellos son capaces de interactuar con los complejos antígeno – anticuerpo, uno con el otro y con membranas celulares en un complejo pero en forma adaptable para
35 destruir los virus y las bacterias y patológicamente, aún las células propias de los anfitriones. Los niveles de suero anormales de las proteínas de complemento se puede deber ya sea a enfermedades heredadas o adquiridas. Por lo menos los niveles de C3 y C4 que circulan reflejan un equilibrio entre el consumo de complemento debido a la formación de complejo y la síntesis incrementada debido a la respuesta de fase aguda. Los métodos para medir los
40 niveles de proteína de complemento son bien conocidos en la técnica.

Se pueden determinar los niveles de interleucinas diferentes utilizando procedimientos conocidos en la técnica tal como utilizando el equipo de ensayo de citoquina ProteoPlex™ (EMD Biosciences Inc., CA, USA).

Agentes

45 El agente selectivo o no selectivo resulta en la destrucción, la inhibición de la producción, o reducción de actividad, de las células reguladoras. Por ejemplo, un anticuerpo específico a CD4+ se puede utilizar para objetivar específicamente las células T CD4+. Sin embargo, en algunos casos se puede utilizar un agente no selectivo, tal como un fármaco anti-proliferativo o radiación, ambos de los cuales destruyen las células que se dividen. En particular, como con otros tipos de células, las células reguladoras son particularmente vulnerables a la destrucción mediante fármacos anti-mitóticos (anti-proliferativos) o venenos antifuso (por ejemplo Vinblastina o paclitaxel)
50 cuando se dividen y específicamente en mitosis.

El término “fármaco anti-proliferativo” es un término bien conocido en la técnica y se refiere a cualquier compuesto que destruye las células que se dividen o las inhibe a partir de que se someten a proliferación adicional. Los fármacos anti-proliferativos incluyen, pero no se limitan a, mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalan, clorambucilo, hexametil-melamina, tiotepa, busulfan, carmustina, lomustina, semustina, estrepto-zocina, dacarbazina, metotrexato, fluorouracilo, floxuridina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina, vinblastina, vinblastina anhidra, vincristina, etoposida, teniposida, dactinomicina, daunorubicina, doxorubicina, bleomicina, plicamicina, mitomicina, L-asparaginasa, cisplatina, mitoxantrona, hidroxiaurea, procarbazona, mitotano, aminoglutetimida, prednisona, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroprogesterona, acetato de megestrol, dietilstilbestrol, etinil estradiol, tamoxifen, propionato de testosterona, isótopos radioactivos, cadena de ricina A, taxol, toxina de difteria, colchicina y exotoxina A de *seudomonas*.

Los agentes se administran usualmente en las formas de dosificación que ya están disponibles para el médico experto, y se administran generalmente en sus cantidades normalmente prescritas (as por ejemplo, las cantidades descritas en el Physician's Desk Reference, 55th Edición, 2001, o las cantidades descritas en la literatura del fabricante para el uso del agente).

En una realización, se administra el agente como un única inyección de bolo. En otra realización, se administra el agente mediante infusión. El periodo de infusión puede ser, por ejemplo, por lo menos 3 horas, por lo menos 12 horas o por lo menos 24 horas.

Los estudios recientes han sugerido que las células T CD4+CD25+ cumplen un función importante en la regulación de las células inmunes dirigida contra auto-antígenos (Salomon et al, 2000; Suri-Payer and Cantor, 2001). Adicionalmente, se ha mostrado las células T CD4+CD25+ que están dirigidos a mejorar la capacidad de un animal para controlar el crecimiento del tumor (Onizuka et al, 1999; Shimizu et al, 1999; Suttmuller et al, 2001). De acuerdo con lo anterior, las células T CD4+CD25+ pueden actuar como células reguladoras como se utiliza aquí. La actividad de la células T CD4+CD25+ se puede regular por descenso mediante anti-GITR, anti-CD28 y/o anti-CTLA-4 (Read et al, 2000; Takahashi et al, 2000; Shimizu et al, 2002). Así, estos anticuerpos pueden ser útiles como agentes para uso en los métodos de la presente invención.

Otro ejemplo de un agente que se puede administrar en un método de la invención es dsARN. Se utiliza dsARN en la interferencia de ARN (ARNi) que es un fenómeno donde luego de la introducción en una célula, el homólogo de mARN al dsARN se degrada específicamente de tal manera que se suprime la síntesis de los productos génicos. Ejemplos de tal un agente que origina ARNi incluyen, pero no se limitan a, una secuencia que tiene por lo menos aproximadamente 70% de homología con la secuencia de ácido nucleico de un gen objetivo o una secuencia que se puede hibridar bajo estrictas condiciones, el ARN que contiene una porción bicatenaria que tiene una longitud de por lo menos 10 nucleótidos o variantes de los mismos. Ejemplos de genes objetivos incluyen, pero no se limitan a, un gen adquirido para replicación de una célula reguladora, un gen adquirido para supervivencia de una célula cancerígena, o un gen adquirido para crecimiento y/o replicación de un agente infeccioso.

Se puede utilizar el dsARN que tiene una longitud de aproximadamente 20 bases (por ejemplo, aproximadamente representativamente 21 a 23 bases) o menos de aproximadamente 20 bases, que se llaman siARN en la técnica. La expresión de siARN en las células puede suprimir la expresión de un gen objetivado por el siARN. En otra realización, un agente capaz de originar ARNi puede tener una estructura de horquilla corta que tiene una porción adhesiva en el terminal 3' (shARN; ARN de horquilla corta). Como se utiliza aquí, el término “shARN” se refiere a una molécula de aproximadamente 20 o más pares base en los que un ARN monocatenario parcialmente contiene una secuencia de base palindrómica y forma una estructura bicatenaria allí (es decir, una estructura de horquilla). El shARN se puede sintetizar artificial y químicamente. Alternativamente, el shARN se puede producir al unir las hebras codificantes y anticodificantes de una secuencia de ADN en direcciones inversas y sintetizar el ARN in vitro con polimerasa de ARN T7 utilizando el ADN como una plantilla. La longitud de la porción bicatenaria no se limita particularmente, pero es preferiblemente aproximadamente 10 o más nucleótidos, y más preferiblemente aproximadamente 20 o más nucleótidos. El extremo 3' sobresaliente puede ser preferiblemente ADN, más preferiblemente ADN de por lo menos 2 nucleótidos en longitud, y aún más preferiblemente ADN de 2-4 nucleótidos en longitud.

Se puede sintetizar de forma artificial un agente capaz de originar ARNi útil para la invención (químicamente o bioquímicamente) o que ocurre naturalmente. No hay sustancialmente diferencia entre los términos del efecto de la presente invención. Un agente sintetizado químicamente se purifica preferiblemente mediante cromatografía líquida o similar.

También se puede producir un agente capaz de originar ARNi utilizado en la presente invención in vitro. En este sistema de síntesis, se puede utilizar la polimerasa ARN T7 y el promotor T7 para sintetizar los ARN codificantes y anticodificante de la plantilla de ADN. Estos ARN se hibridan y después se introducen en una célula.

El dsARN se puede suministrar al paciente utilizando cualesquier medios conocidos en la técnica. Ejemplos de métodos para suministrar dsARN a un paciente se describen en, por ejemplo, la US 20040180357, US 20040203024 y 20040192629.

Tiempo de Exposición del Sujeto al Agente

5 Para el investigador que aplica aleatoriamente un único tratamiento de quimioterapia anti-proliferativa a un paciente con cáncer existe una oportunidad aproximada de 1 en 14, a 1 en 15 de conseguir el momento oportuno. Una oportunidad uno en catorce es igual a un 7% de probabilidad de aplicar la terapia en el día correcto, cuando las células reguladoras son vulnerables a la inactivación. Si esto se hace, el tumor debe retroceder mediado por la destrucción inmune. Más específicamente, nuestra hipótesis es que una vez se han removido las células reguladoras mediante intervención terapéutica, la respuesta inmune contra el tumor o virus puede proceder sin obstáculos, llevando en última instancia al control de la enfermedad.

10 Mientras que no se desea estar limitado por la teoría, se considera que el número relativo de células efectoras se expande en respuesta a un antígeno antes de las células reguladoras. De acuerdo con lo anterior, el tiempo de la administración del agente es tal que el agente ejerce un efecto proporcionalmente mayor contra las células reguladoras que contra las células efectoras. Es preferible claramente que se administre el agente en un momento cuando es mayor la relación de efecto contra las células reguladoras que el efecto contra las células efectoras.

20 Como se señaló anteriormente, la presente invención se base en el fenómeno que el sistema inmune es cíclico durante un periodo de aproximadamente 14 a 15 días en un paciente que sufre de una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras. En muchos casos, el punto de tiempo en el que se debe administrar el agente necesitará ser determinado de forma empírica en los sujetos en etapas diferentes de la enfermedad ya que sus pueden variar sus cinéticas de respuesta inmune. Otros factores tales como la salud general del sujeto y/o la composición genética del sujeto también impactarán cuando es el momento apropiado para administrar el agente.

25 Como se apreciará por parte del experto, las afecciones tales como cáncer y infección persistente crónica son enfermedades serias, que a menudo amenazan la vida. Debido a muchos factores, no menos de los cuales son variaciones naturales entre los individuos, se requerirá típicamente que un paciente se monitoree durante un periodo de tiempo razonable para apreciar la naturaleza del ciclo inmune en el individuo, y para que el monitoreo analice un número de factores (tales como una combinación de marcadores de fase aguda y antígenos contra enfermedades), para determinar en última instancia el momento más apropiado para administrar el agente para optimizar las oportunidades de un tratamiento efectivo.

30 Se pueden utilizar técnicas conocidas en el arte para monitorear la población creciente de células efectoras y/o reguladoras durante el "ciclo".

35 Se pueden recolectar muestras de sangre en serie y detectar cuantitativamente para todos los subconjuntos de CD4+ mediante análisis FACS. Este monitoreo FACS necesitará ser mantenido hasta que las células reguladoras inician expansión clónica en respuesta al estado de enfermedad, ya sea producidas por el tumor o administradas al sujeto. Otros posibles ensayos para monitorear la población creciente de células reguladoras incluyen ensayos de proliferación/ activación de linfocitos y varios ensayos de nivel de citoquina (por ejemplo un ensayo para IL-4, IL-6 o IL-10).

40 También, se pueden recolectar muestras de sangre en serie y detectar cuantitativamente para toda la actividad de célula efectora tal como pero no se limita a CD8+, CRP, SAA y varias citoquinas. Tales marcadores de célula efectora precederán los marcadores de célula reguladora.

45 Cuando la enfermedad es cáncer otra vía para determinar el punto de tiempo para administrar el agente es monitorear la carga de tumor. Se prevé que la carga de tumor disminuye debido a la actividad de las células efectoras, sin embargo, el incremento posterior en las células reguladoras podría regular en forma descendente las células efectoras lo que resulta en una desaceleración de la disminución de la carga de tumor. De acuerdo con lo anterior, el agente se puede administrar aproximadamente antes que se desacelere la disminución de la carga de tumor. Las técnicas conocidas en el arte, por ejemplo RT-PCR o detección de anticuerpo, de marcadores expresados por el tumor, se pueden utilizar para medir la carga de tumor en estas circunstancias. Ejemplos de ensayos de marcador de antígeno de tumor adecuados incluyen, pero no se limitan a, AFP (marcador para carcinoma hepatocelular y tumores de célula germen), CA 15-3 (marcador para numerosos cánceres que incluyen cáncer de mama), CA 19-9 (marcador para numerosos cánceres que incluyen cáncer pancreático y tumores del tracto biliar), CA 125 (marcador para varios cánceres que incluyen cáncer de ovario), calcitonina (marcador para varios tumores que incluyen carcinoma medular de tiroides), catecolaminas y metabolitos (faecromoctoma), CEA (marcador para varios cánceres que incluyen cánceres colorectales y otros cánceres gastrointestinales), hCG/beta hCG (marcador para varios cánceres que incluyen tumores de célula germen y coriocarcinomas), 5HIAA en orina

(síndrome carcinoide), PSA (cáncer de próstata), serotonina (síndrome carcinoide) y tiroglobulina (carcinoma de tiroides).

5 El monitoreo puede necesitar ser muy frecuente, por ejemplo tan a menudo como cada pocas horas, para asegurar el punto de tiempo correcto seleccionado para la administración del agente. Preferiblemente, el monitoreo por lo menos cada 48 horas. Más preferiblemente, el monitoreo se conduce por lo menos cada 24 horas.

10 Óptimamente, el monitoreo se continúa para determinar el efecto del agente. La regulación por descenso insuficiente, reemergencia de las células reguladoras o incrementos en, por ejemplo, la carga de tumor significarán que se debe repetir el método de la presente invención. Tales ciclos de tratamiento repetidos pueden generar memoria inmunológica. Es por lo tanto posible que la presente invención, utilizada en modo repetido, pueda proporcionar algún efecto protector profiláctico.

Vacunas

15 Como se señaló anteriormente, el inventor también ha notado que después de un estudio de la bibliografía que el tratamiento de una variedad de cánceres con vacunas terapéuticas, en promedio produce un índice de respuesta completo de aproximadamente 10% (ver, por ejemplo, Trefzer et al., 2004; Lotem et al., 2004; Smithers et al., 2003; Belli et al., 2002; Berd et al., 2001; Wittig et al., 2001). Esto implica una ventana de oportunidad de la aplicación terapéutica de 1.5 días cada 14 días (10%). Esto es similar y así dentro del ámbito de la probabilidad de los índices de respuesta completa de aproximadamente 7% (1 día en 14) ver en quimioterapia de cáncer reportada aquí. Así, se opera un mecanismo similar en la situación de vacuna situación por lo cual la inoculación de una vacuna contra el cáncer en el paciente en el momento correcto es suficiente para molestar los mecanismos/células reguladoras que permiten a los efectores matar el tumor lo que resulta en una respuesta completa.

20 Naturalmente, las vacunas utilizadas en la presente invención resultarán en una respuesta inmune contra una enfermedad caracterizada por la producción de células reguladoras. Tal vacuna comprenderá por lo menos un antígeno, o un polinucleótido que codifica dicho antígeno. Se puede proporcionar la vacuna como cualquier forma conocida en la técnica tal como, pero no limitada a, una vacuna de ADN, ingestión de un organismo transgénico que expresa el antígeno, o composición que comprende el antígeno.

25 Como se utiliza aquí, un "antígeno" es cualquier secuencia de polipéptido que contiene un epítipo que es capaz de producir una respuesta inmune contra la enfermedad.

30 Los antígenos que son capaces de elevar una respuesta inmune contra una célula cancerígena son bien conocidos en la técnica. Ciertos antígenos de tumor se pueden reconocer y objetivar por el sistema inmune. Esta propiedad puede ser debido a la sobreexpresión mediante el tejido de tumor. Se pueden detectar algunos de estos antígenos en el tejido normal. Los antígenos de tumor dirigidos por las células T son generalmente proteínas que se procesan intracelularmente y se presentan como fragmentos de péptido cortos unidos en la ranura del tumor la molécula I de clase MHC para ser reconocido por los linfocitos T citotóxicos CD8+. La sola presencia de un antígeno de tumor no es siempre suficiente para activar una respuesta inmune. Se requieren algunas veces las moléculas co-activadoras tales como B7.1. Una vez se estimulan las células T específicas a antígeno, ellas son capaces de reconocer y destruir el tumor. Las condiciones necesarias para la activación de células T específicas a antígeno son estrictas, pero se abren a la manipulación genética de las células de tumor objetivo y células T.

Los antígenos que se pueden utilizar para tratar infecciones, tales como VIH, con bien conocidos en la técnica.

40 Se puede proporcionar el antígeno en una forma conocida en la técnica que lleva a una respuesta inmune. Un antígeno puede ser, por ejemplo, natural, recombinante o sintético. Se pueden preparar los antígenos naturales, por ejemplo, al proporcionar lisatos celulares de una célula de tumor.

45 Se pueden preparar las vacunas a partir de uno o más antígenos. La preparación de vacunas que contiene un antígeno se conoce por un experto en la técnica. Típicamente, se preparan tales vacunas como inyectables, u orales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas; también se pueden preparar las formas sólidas para solución en, o suspensión en, líquido antes de inyección o consumo oral. La preparación también se puede emulsificar, o encapsular la proteína en liposomas. El antígeno se mezcla a menudo con portadores/ excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo. Los portadores /excipientes son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol, o similar y combinaciones de los mismos.

50 En adición, si se desea, la vacuna puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes de humectación o emulsificantes, agentes que amortiguan el pH, y/o adyuvantes que mejoran la eficacia de la vacuna.

Típicamente, las vacunas comprenden un adyuvante. Como se utiliza aquí, el término “adyuvante” significa una sustancia que no mejora específicamente la respuesta inmune a un antígeno. Ejemplos de adyuvantes que pueden ser efectivos incluyen pero no se limitan a: N-acetil-muramyl-L- treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-nor-muramyl-L-alanyl- D-isoglutamina (CGP 11637, denominado como nor-MDP), N-acetilmuramyl-L- alanil-D-isoglutaminil-L- alanina-2-(1-2- dipalmitoil- sn-glicero-3-hidroxfosforiloxi)- etilamina (CGP 19835A, denominado como MTP-PE), y RIBI, que contiene tres componentes extraídos de bacterias, lípido A monofosforilo, dimicolato de trehalosa y esqueleto de pared celular (MPL+TDM+CWS) en una emulsión de 2% de escualeno/Tween 80. Ejemplos adicionales de adyuvantes incluyen hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, sulfato de potasio aluminio (alúmina), endotoxina bacteriana, lípido X, *Corynebacterium parvum* (*Propionibacterium acnes*), *Bordetella pertussis*, poliribonucleótidos, alginato de sodio, lanolina, lisolecitina, vitamina A, saponina, liposomas, levamisol, DEAE-dextran, copolímeros de bloqueo u otros adyuvantes sintéticos. Tales adyuvantes están disponibles comercialmente de varias fuentes naturales, por ejemplo, Adyuvante Merck 65 (Merck and Company, Inc., Rahway, N.J.) o Adyuvante Incompleto y Completo de Freund (Difco Laboratories, Detroit, Michigan).

Se puede variar la proporción de antígeno y adyuvante durante un amplio rango siempre y cuando este presente en cantidades efectivas. Por ejemplo, puede estar presente hidróxido de aluminio en una cantidad de aproximadamente 0.5% de la mezcla de vacuna (base Al_2O_3). Convenientemente, se formulan las vacunas por contener una concentración final de polipéptido antigénico en el rango de 0.2 a 200 $\mu g/ml$, preferiblemente 5 a 50 $\mu g/ml$, más preferiblemente 15 $\mu g/ml$.

Después de la formulación, se puede incorporar la vacuna en un contenedor estéril que luego se sella y se almacena e una baja temperatura, por ejemplo 4° C, o se puede secar por congelamiento. La liofilización permite almacenamiento a largo plazo en la forma estabilizada.

Se administran de forma convencional las vacunas parenteralmente, mediante inyección, por ejemplo, ya sea subcutáneamente o intramuscularmente. Las formulaciones adicionales que son adecuadas para otros modos de administración incluyen supositorios y, en algunos casos, formulaciones orales. Para los supositorios, aglutinantes tradicionales y portadores pueden incluir, por ejemplo, glicoles de polialquileño o triglicéridos; se pueden formar tales supositorios a partir de mezclas que contienen el ingrediente activo en el rango de 0.5% a 10%, preferiblemente 1% a 2%. Las formulaciones orales incluyen tales excipientes empleados normalmente como, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, y similares. Estas composiciones toman la forma de soluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, formulaciones de libración sostenida o polvos y contienen 10% a 95% del ingrediente activo, preferiblemente 25% a 70%. Cuando se liofiliza la composición de vacuna, se puede reconstituir el material liofilizado antes de la administración, por ejemplo como una suspensión. Se efectúa preferiblemente la reconstitución en amortiguador.

Se pueden proporcionar cápsulas, comprimidos y píldoras para la administración oral a un paciente con un recubrimiento entérico que comprende, por ejemplo, Eudragit “S”, Eudragit “L”, acetato de celulosa, etilato acetato de celulosa o hidroxipropilmetil celulosa.

La vacuna de ADN involucra la introducción in vivo directa de ADN que codifica un antígeno en los tejidos de un sujeto para expresión del antígeno mediante las células del tejido del sujeto. Tales vacunas se denominan aquí “vacunas de ADN” o “vacunas basadas en ácido nucleico”. Se describen vacunas de ADN en la US 5,939,400, US 6,110,898, WO 95/20660 y WO 93/19183, las descripciones de las cuales se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

A la fecha, la mayoría de las vacunas de ADN en los sistemas de mamífero se han basado sobre los promotores víricos derivados de citomegalovirus (CMV). Estos tienen una buena eficacia en la inoculación en el músculo y la piel en un número de especies de mamífero. Un factor que se sabe afecta la respuesta inmune provocada por la inmunización con ADN es el método de suministro de ADN, por ejemplo, las rutas parenterales pueden producir bajos índices de transferencia de gen y producir considerable variabilidad de la expresión de gen. La alta velocidad de inoculación de plásmidos, utilizando una pistola de gen, mejorar las respuestas inmunes en los ratones, presumiblemente debido a una mayor eficiencia de la transfección de ADN y presentación de antígeno más efectiva mediante células dendríticas. También se pueden introducir los vectores que contienen vacuna basada en ácido nucleico en el anfitrión deseado mediante otros métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, transfección, electroporación, microinyección, transducción, fusión celular, dextrano DEAE, precipitación de fosfato de calcio, lipofección (fusión de lisosoma), o un transportador de vector de ADN.

Se pueden construir plantas transgénicas que producen un polipéptido antigénico utilizando procedimientos bien conocidos en la técnica. Un número de vacunas comestibles derivadas de plantas se desarrollan actualmente para ambos patógenos animales y humanos. Las respuestas inmunes también han resultado de la inmunización oral con plantas transgénicas que producen partículas similares a virus (VLPs), o virus de plantas quiméricas que exhiben epítopos antigénicos. Se ha sugerido que la forma particulada de estos virus VLP o quiméricos puede resultar en

mayor estabilidad del antígeno en el estómago, incrementando de forma efectiva la cantidad de antígeno disponible para la absorción en el intestino.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

5 Se proporcionan adelante ejemplos de ensayos típicos utilizados para monitorear algunos marcadores inflamatorios de fase aguda, así como también el marcador de cáncer de ovario CA125.

Proteína Reactiva C

10 Se mide la proteína reactiva C utilizando un Analizador de Química DADE Behring Dimension RxL, con reactivos y calibradores suministrado por Dade Behring Diagnostics (Sydney, Australia) (reactivo-Cat No. DF-34; calibradores Cat. No. DC-34).

El método CRP se basa en una técnica de inmunoensayo turbidimétrico mejorado de partícula. Las partículas de látex recubiertas con el anticuerpo a la proteína reactiva C se agregan en la presencia de proteína reactiva C en la muestra. El incremento en la turbidez que acompaña la agregación es proporcional a la concentración de la proteína reactiva C.

PRECISIÓN INTRAENSAYO			PRECISIÓN INTERENSAYO		
MEDIA mg/L	CV	N	MEDIA mg/L	CV	N
3.4	4.3%	20	4.6	5.6%	64

15

PRECISIÓN INTRAENSAYO			PRECISIÓN INTERENSAYO		
MEDIA mg/L	CV	N	MEDIA mg/L	CV	N
57.5	2.3%	20	37.0	3.0%	64
225.8	2.0%	20			
RANGO DE REFERENCIA: 0 - 5 mg/L					
RANGO ANALÍTICO: 0.5 - 500 mg/L					

Antígeno de cáncer 125 (CA125)

20 El AxSym CA 125 se basa en la Tecnología de Inmunoensayo de Enzima de Micropartícula (MEIA) llevada a cabo en Abbott Diagnostics AxSym con reactivos y calibradores suministrado por Abbott Diagnostics (AxSym Reagent pack-Cat No. 3B41-22; calibradores-Cat No. 9C22-01).

25 La muestra, las micropartículas recubiertas Anti CA 125 y el diluyente de espécimen se pipetea en un pozo del matraz de reacción. El CA 125 que une a las micropartículas recubiertas con Anti-CA 125 forman un complejo Ab-Ag. Una alícuota de la mezcla de reacción que contiene el complejo Ab-Ag vinculado a las micropartículas se unen irreversiblemente a la matriz de fibra de vidrio. La célula de matriz se laca con amortiguador de lavado para remover los materiales no vinculados. El conjugado ALP específico de subunidad anti-CA 125 se dispersa en la célula de matriz y se une con el complejo Ab-Ag. La célula de matriz se lava para remover el material no vinculado. El sustrato, 4-metil umbeliferil fosfato, se agrega a la célula de matriz y el producto fluorescente se mide por el ensamble óptico MEIA.

Se hacen diluciones con diluyente de espécimen Abbott CA 125 (No. 3B41-50).

ES 2 357 430 T3

El coeficiente de Variación como se evalúa del suero de control de calidad de rutina en dos niveles (Control de Marcador de Tumor Abbott (niveles 9C22-10 1, 2 & 3) es como sigue:

		MEDIA	DE	CV %	N
NIVEL 1	U/mL	27	2.5	9.4	64
NIVEL 2	U/mL	78	5.5	7.1	64
NIVEL 3	U/mL	211	21.4	10.2	54

RANGO DE REFERENCIAS: 0 -35 U/mL

RANGO ANALÍTICO: 2 - 600 U/mL

5 Receptor de Interleuquina 2 (IL2R)

El receptor de la interleuquina 2 de citoquina (IL2R) se mide por un Ensayo de Inmuno Enzima quimioluminiscente automático comercial (EIA) utilizando un Analizador Immulite de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA, USA).

10 Esto es un inmunoensayo competitivo utilizando IL2R marcado con Fosfatasa Alcalina como traza y adamantil dioxetano como sustrato luminescente para la enzima ALP.

Todos los reactivos y calibradores se suministran en la forma de equipo por DPC - Cat No. LKIPZ. Desempeño analítico:

	MEDIA	DE	CV %
NIVEL 1	213 U/mL	13	6.1
NIVEL 2	752 U/mL	49	6.5
NIVEL 3	2463 U/mL	189	7.7

RANGO ANALÍTICO: 5 - 7,500 U/mL

RANGO DE REFERENCIA: 223 - 710 U/mL*

*El estudio se desarrolla en 87 adultos aparentemente saludables

Interleuquina 6

15 La interleuquina 6 citoquina se mide por un Ensayo de Inmuno Enzima automático comercial (EIA) utilizando un Analizador Immulite de Diagnostic Products Corporation (Los Angeles, CA, USA).

Esto es un inmunoensayo competitivo utilizando IL-6 marcado con Fosfatasa Alcalina como traza y adamantil dioxetano como sustrato luminescente para enzima ALP.

Todos los reactivos y calibradores se suministran en la forma de equipo por DPC - Cat No. LK6PZ. Desempeño analítico:

	MEDIA	DE	CV %
NIVEL 1	88 pg/mL	4.5	5.1
NIVEL 2	230 pg/mL	12.2	5.3
NIVEL 3	63 8 pg/mL	46.6	7.3

RANGO ANALÍTICO: 2- 1000 pg/mL

RANGO DE REFERENCIA: < 4.1 pg/mL*

*Estudio desarrollado en 60 voluntarios de laboratorio aparentemente saludables

Interleuquina 10

La interleuquina 10 de citoquina se mide mediante un Ensayo de Inmuno Enzima quimioluminiscente automático comercial (EIA) utilizando un Analizador Immulite de Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, Ca USA.

5 Esto es un inmunoensayo competitivo utilizando IL-10 marcado con Fosfatasa Alcalina como traza y adamantil dioxetano como sustrato luminiscente para la enzima ALP.

Todos los reactivos y calibradores se suministran en la forma de equipo por DPC - Cat No. LKXPZ. Desempeño analítico:

	MEDIA	DE	CV %
NIVEL 1	18.2 pg/mL	1.8	9.9
NIVEL 2	46.0 pg/mL	2.2	4.8
NIVEL 3	177 pg/mL	8.0	4.5

RANGO ANALÍTICO: 5 -1000 pg/mL

RANGO DE REFERENCIA: < 9.1 pg/mL*

*Estudio desarrollado en 55 adultos aparentemente saludables

Amiloide A de suero

10 Las partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos para SAA humano se aglutinan cuando se mezcla con muestras que contienen SAA. La intensidad de la luz dispersa en el nefelómetro depende de la concentración del analito en la muestra y posteriormente su concentración se puede determinar mediante comparación con diluciones de un estándar de concentración conocida.

IMPRECISIÓN: CV 4.7% @ 192 mg/L N=404

CV 2.8% @ 7.0 mg/L N=40

RANGO DE REFERENCIA: En una población con niveles de CRP en suero normales (95avo percentil = 5.0 mg/L N=483) el 95avo percentil para el Látex N SAA se encuentra que es 6.4 mg/L RANGO ANALÍTICO: 3.0 - 200 mg/L

Complemento C3

15 El método automático utilizado para medir la concentración de complemento C3 en las muestras de suero mediante análisis nefelométrico utilizando un analizador Dade Behring ProSpect con reactivos y calibradores suministrado por Dade Behring Diagnostics (Sydney, Australia).

20 La solución de antígeno soluble (muestra) y los anticuerpos específicos (antisuero Cat No. OSAP 15) se mezclan en las cubetas de reacción. Los complejos de anticuerpo-antígeno insolubles forman inmediatamente, producir la turbidez en la mezcla e incrementa la cantidad de luz dispersa por la solución. Luego de un periodo de incubación la absorbancia de la solución se mide en la longitud de onda analítica.

IMPRECISIÓN:	CV 5.5% @ 1.05 g/L	N=61
	CV 3.2% @ 2.70 g/L	N=61
RANGO DE REFERENCIA: 0.81 -		1.85 g/L
RANGO ANALÍTICO: 0.10 - 3.50 g/L		

Complemento C4

El método automático utilizado para medir la concentración de complemento C4 en muestras de suero mediante análisis nefelométrico utilizando un analizador Dade Behring ProSpect con reactivos y calibradores suministrado por Dade Behring Diagnostics (Sydney, Australia).

- 5 La solución de antígeno soluble (muestra) y los anticuerpos específicos (antisuero Cat No. OSAO15) se mezclan en las cubetas de reacción. Los complejos de anticuerpo-antígeno insolubles se forman inmediatamente, produciendo turbidez en la mezcla e incrementado la cantidad de luz dispersa mediante la solución. Luego de un periodo de incubación la absorbancia de la solución se mide en la longitud de onda analítica.

IMPRECISIÓN:	CV 4.7% @ 0.20 g/L	N=61
	CV 3.8% @ 0.53 g/L	N=61
RANGO DE REFERENCIA: 0.10 - 0.40 g/L		
RANGO ANALÍTICO: 0.03 - 1.50 g/L		

Ejemplo 2

- 10 Se monitorea un paciente con cáncer de ovario hembra joven durante aproximadamente 12 días para fluctuaciones en los niveles de proteína c reactiva, amiloide A de suero y el marcador de tumor CA125. Se desarrolla monitoreo utilizando pruebas de laboratorio estándar en muestras de sangre recolectadas día de por medio. El paciente no se ha expuesto recientemente a ninguna terapia anti-cáncer. Adicionalmente, no existe evidencia que el paciente sufre de cualesquier enfermedades diferentes a cáncer. El CA125 (un marcador de cáncer de ovario) se monitorea como un indicador de la carga de morbilidad.
- 15

Como se muestra en la Figura 1A, los niveles de proteína reactiva C (CRP) añadida al inicio del periodo de monitoreo. Adicionalmente, como se muestra en la Figura 1B se elevan los niveles de amiloide A de suero al mismo tiempo del pico CRP.

Estos resultados indican que;

- 20 i) los niveles de proteínas inflamatorias de fase aguda se fluctúan en un paciente con cáncer en la ausencia cualesquier otros factores conocidos que pueden originar estas fluctuaciones tales como infección vírica o quimioterapia,
- ii) los niveles elevados de proteínas inflamatorias de fase aguda se asocian con los niveles inferiores de antígeno de tumores que sugieren la presencia de células efectoras, y
- 25 iii) los niveles incrementados de antígeno de tumor se asocian con los niveles inferiores de proteínas inflamatorias de fase aguda que sugieren que las células reguladoras han contrarrestado la actividad benéfica de las células efectoras de tal manera que estas células no son más activas contra las células de tumor.

Ejemplo 3

- 30 Un sujeto humano que sufre de una infección de VIH se somete a terapia antiretroviral altamente activa (HAART) durante por lo menos 6 meses y luego se toma del tratamiento. Se determinan los niveles de proteína reactiva C utilizando técnicas estándar en muestras obtenidas durante y después de la compleción de HAART.

Como se ve en la Figura 2, los resultados muestran que luego de conclusión de los niveles de proteína reactiva C HAART inician en el ciclo, el pico aproximadamente cada 14 días.

Ejemplo 4

Se utiliza suero CRP para monitorear la respuesta inmune en el paciente con VIH quien ha detenido su terapia anti-retrovírica (Figura 3). En este estudio los niveles CRP imitan fluctuaciones de carga vírica cuando las respuestas inmunes prenden y apagan (Figura 3). Es interesante notar que estas fluctuaciones CRP tienen un ciclo aproximado de 14 días.

Ejemplo 5

La base de datos "Pubmed" (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) se busca para los resúmenes de artículos de periódico que describe los resultados de ensayos clínicos Fase II o Fase III utilizando agentes anti-cáncer (tal como vinblastina y taxol) para el tratamiento de cáncer. Otros criterios que se utilizan para seleccionar los "resúmenes" son que el cáncer está en una etapa tardía (etapa III o etapa IV) y la enfermedad se ha diseminado. Algunos estudios utilizan un fármaco único mientras se utilizan otras combinaciones. No se utilizan otros criterios y estudios con un índice de respuesta completa atípica no se cuenta.

El índice de respuesta completa (como se indica en los resúmenes) para cada ensayo se utiliza para determinar el índice de respuesta promedio completo de cada tipo de cáncer. Los resultados se proporcionan como la Tabla 1. Notablemente, el índice de respuesta promedio completo varía solo un grado pequeño, a saber entre 5.1 a 8.2% para todos los cánceres analizados. Se utilizan los resultados proporcionados en la Tabla 1 para determinar el índice de respuesta promedio completa general. Este índice de respuesta completa promedio es 6.6% sobre por lo menos 10 tipos diferentes de cánceres cuando se consideran los 144 ensayos analizados.

Con respecto específico a los datos proporcionados para el cáncer de ovario se debe notar que un estudio (Adachi et al., 2001) observa un índice de respuesta completa 25% que es muy grande comparado con los otros 143 ensayos. Este estudio observa ocho pacientes, con dos pacientes que proporcionan un índice de respuesta completa. Aunque esto está bien dentro del ámbito de la posibilidad, si se ignora el estudio el índice de respuesta completo general para los estudios de cáncer de ovario restantes es 7.1 %.

Los índices de respuesta completa son remarcablemente consistentes entre los diferentes cánceres, y sus regímenes de tratamiento, que sugiere un factor destacado relevante para todos los cánceres y sus tratamientos. Como se describe aquí, este factor es que el sistema inmune se cicliza. De acuerdo con lo anterior, se puede argumentar que los índices de respuesta completa proporcionados en la Tabla 1 son el resultado del agente anti-cáncer que se administra en un momento apropiado de tal manera que los números de células efectoras se maximizan mientras se reducen los números de células reguladoras o se remueven, o la actividad se subregula o se compromete, mediante el agente anti-cáncer suficiente para provocar una respuesta completa.

Tabla 1 – Índices de Respuesta Completa que Resultan de Ensayos Clínicos con Fármacos Anti-Cáncer contra Varios Cánceres.

Tipo de cáncer	Índice de Respuesta Completa (%)	Número of Ensayos
Mesotelioma ^a	5.1	10
Gástrico ^b	7.33	15
Hepatocelular ^c Pancreático ^d	6.6	8
	7.35	4
Melanoma ^e	7.5	15
Próstata ^f	5.15	7
Pulmón NSC ^g	5.85	6
Mama ^h	7.36	19
Ovario ⁱ	8.2	15

Colorectal ⁱ	6.85	28
Varios	6.0	17

^a Tsavaris et al (1997), Monnet et al (2002), Pinto et al (2001), Kindler et al (1999), Yogelzang et al (1997), Planting et al (1995), Chahinian et al (1993), Raghavan et al (1990), Henss et al (1988) y Mbidde et al (1986).

5 ^b Kollmannsberger et al (2000), Sugimachi et al (2000), Jeen et al (2001), Yamada et al (2001), Aitini et al (2001), Cho et al (2002), Komek et al (2002), Hofheinz et al (2002), Constenla et al (2002), Kim et al (2002), Louvet et al (2002), Kikuyama et al (2002), Bar Sela et al (2002), Murad et al (1999) y Sakata et al (1998).

^c Porta et al (1995), Pohl et al (2001), Oon et al (1980), Choi et al (1984), Zeng et al (1998), Carr et al (1997), Patt et al (2003) y Leung et al (1999). Murad et al (2003), Ashamalla et al (2003), Safran et al (2002) y Sherman et al (2001).

10 ^e Retsas et al (1996), Nathan et al (2000), Bafaloukos et al (2002), Bafaloukos et al (2002), Buzaid et al (1998), Gibbs et al (2000), Atkins et al (2002), Gundersen et al (1989), Johnson et al (1985), Nystrom et al (2003), Einzig et al (1991), Bedikian et al (1995), Einzig et al (1996), Nathan et al (2000) y Chapman et al (2002).

^f Hudes et al (1997), Kelly et al (2001), Savarese et al (1999), Small et al (2001), Savarese et al (2001), Trivedi et al (2000) y Picus et al (1999).

15 ^g Mariotta et al (2002), Recchia et al (2002), Perng et al (2000), Ginopoulos et al (1999), Paccagnella et al (1996) y Agelaki et al (2001).

20 ^h Freyer et al (2003), Morabito et al (2003), Kosmas et al (2003), Gebbia et al (2003), Thomas et al (1994), Romero et al (1994), Pectasides et al (2001), Frasci et al (2002), Stathopoulos et al (2002), Gomez-Bernal et al (2003), Freyer et al (2003), Komek et al (1998), Michelotti et al (1996), Kakolyris et al (1999), Twelves et al (1994), Fumoleau et al (1993) y Ibrahim et al (1999).

ⁱ Li et al (2002), Sehoul et al (2002), Rose et al (2003), Faivre et al (2002), Dieras et al (2002), Adachi et al (2001), Sutton et al (1994), McClay et al (1995), Manetta et al (1994), Guastalla et al (1994), Covens et al (1992), Einzig Al. (1994), Kjorstad et al (1992), Ozols et al (1984), Planner et al (1996) y Amadori et al (1997).

25 ^j Cassinello et al (2003), Glimelius et al (2002), Calvo et al (2002), Scheithauer et al (2002), Neri et al (2002), Falcone et al (2001), Kouroussis et al (2001), Meropol et al (2001), Comella et al (2000), Cascinu et al (1999), Sobrero et al (1995), Gamelin et al (1998), Romero et al (1998), Beerblock et al (1997), Blanke et al (1997), Grem et al (1993), Jeremic et al (1993), Posner et al (1992), Sinnige et al (1990), LoRusso et al (1989), Petrelli et al (1989), Valdivieso et al (1981), Cassinello et al (2003), Reina et al (2003), Comella et al (1999), Neri et al (1998), Pyrhonen et al (1992) y Beck et al (1984).

30 ^k cánceres incluyendo carcinoma de célula renal, adenocarcinoma, carcinoma de célula escamosa, cáncer cervical uterino, glioblastoma multiforme, osteosarcoma metastásico, cáncer urotelial y cáncer endometrial. Descrito por Schomagel et al (1989), Liu et al (2001), Forastiere et al (1987), Okuno et al (2002), Takasugi et al (1984), Hurteloup et al (1986), Kakolyris et al (2002), Morris et al (1998), Takeuchi et al (1991), Fountzilias et al (1999), Rosenthal et al (2000), Goorin et al (2002), Rodriguez-Galindo et al (2002), Ahmad et al (2002), DiPaola et al (2003) y Lissoni et al (1996).

40 Si se considera el ciclo típico de números de célula efectora/reguladora como aproximadamente 15 días, los datos en la Tabla 1 sugieren una ventana de un día para administrar la terapia anti-cáncer para alcanzar un índice de respuesta completa. Los índices de respuesta parcial en el orden de 30% se notan típicamente lo que sugiere que su se administra el agente en un periodo de 24 a 36 horas el lado de esto “una ventana de un día” también puede alcanzar un efecto benéfico.

Ejemplo 6

Paciente

El paciente es una hembra de 75 años de edad designado aquí “Mrs OM”.

Historia

Cirrosis de hígado, enfermedad cardiaca isquémica, diabético dependiente de insulina. Diagnosticado con carcinoma de célula escamosa de esófago inferior mediante endoscopia y biopsia/histología Mayo 2004. El cáncer resulta en el hallazgo que al paciente le es difícil de tragar.

Descripción del tumor

- 5 Masa circunferencia de cinco centímetros en la base del esófago, que ocluye parcialmente el lumen. Penetración epitelial/mural desconocida.

Régimen de Terapia

Radioterapia aproximadamente 33 cursos de 15 minutos de duración cada día de la semana durante 6-8 semanas. Quimioterapia más limitada debido a otras condiciones médicas subyacentes.

- 10 El oncólogo está de acuerdo con dar dos aplicaciones de quimioterapia (~8hr infusión de 5 Fluorouracilo y Carboplatina). La aplicación se coordinaría con el ciclo/oscilación de la respuesta inmune del paciente para intentar subregulación del tiempo de células reguladoras específicas de tumor cíclico.

Monitoreo e Intervención Terapéutica

- 15 Para detectar la oscilación de respuesta inmune, el monitoreo de la respuesta inmune del paciente inicia el 28/5/2004, día 1, utilizando los siguientes ensayos; CRP, SAA, C3, C4 & CA125. Se utiliza CA125 para monitorear el progreso de la enfermedad como esto se ha reportado en la bibliografía en el caso del carcinoma de célula escamosa del esófago.

- 20 Durante las etapas iniciales de monitoreo, el paciente reporta dificultad incrementada en hinchamiento, probablemente debido al crecimiento del tumor. Esto se corroboró mediante un elevamiento consistente en todos los parámetros medidos (ver Figuras 4 a 7).

De manera interesante la subida de CA125 brevemente estancado durante un periodo de aproximadamente 24hr, (Figura 6 día 12-14) solo para elevar a un gradiente en forma de etapa entre este punto. Esto se interpreta como la respuesta inmune del paciente cambia y modula el crecimiento del tumor y el marcador (CA125), solo para cambio debido a la regulación inmune al final del periodo de aproximadamente 24hr.

- 25 Ester periodo de aproximadamente 24hr establece el final de un ciclo de aproximadamente 14 días y el inicio del siguiente, y por lo tanto un punto de intervención potencial o un punto de referencia para proyectar hacia adelante para puntos de intervención adicionales.

- 30 Habiendo definido el inicio y el final del ciclo de ~14 días ahora es posible anticipar y proyectar hacia adelante un número de días para estimar mejor dos puntos de intervención quimioterapéuticos potenciales a partir de 2 semanas.

- 35 Se ha decidido tomar sangre/mediciones del paciente el Martes, Miércoles y Jueves (Figura 7, 13,14 & 15 Julio, días 46,47 & 48, como flechas B) para definir exactamente el punto o ventana de intervención terapéutica. Si el ciclo se ha determinado exactamente, un pico seguido por un giro hacia abajo en el CRP se debe ver durante aquellos días en lo cual se lleva a cabo análisis. (Figura 7). Este patrón en el CRP se debe repetir aproximadamente 14 días después y mantener con la periodicidad persistente de la oscilación de la respuesta inmune. Esto se encuentra que es el caso (Figura 7).

- 40 Con base en los resultados CRP, el inventor recomienda al oncólogo administrar la primera aplicación de la quimioterapia aproximadamente el miércoles 14/7/2004 o jueves 15/7/2004. Sin embargo, el Mrs OM ya ha reservado la quimioterapia el viernes 16/7/2004, y el oncólogo no decide cambiar esta cita. Debido a que esta fecha es justo después del pico en el CRP (Figura 7, como flecha C) el inventor considera que la ventana de oportunidad se puede haber perdido debido a la aplicación de la terapia puede ser 24hrs más tarde. El inventor espera que en el tiempo de la terapia se administre CRP debería empezar a surgir de nuevo. Esta predicción prueba ser correcta sin efecto evidente en el tumor después de la administración de la quimioterapia.

- 45 Se determina/predice un segundo punto de intervención y se toma sangre el Miércoles y Jueves (Figura 7, 28 & 29 Julio, días 63 y 64 como flecha D). La predicción se confirma mediante un pico en el análisis CRP que indica Viernes 30/7/2004, día 65 (Figura 7, como flecha E) como el punto de intervención óptimo para la aplicación de la quimioterapia. Se administra quimioterapia como una infusión de 8 hr el Viernes. En esta ocasión el inventor predice que este sería el tiempo apropiado para administrar la terapia cuando aún se reduce el CRP.

El sábado el paciente desarrolla fiebre moderada y se siente en general mal. Temprano en la noche el Sábado 1st Agosto, día 67, (Figura 7, comoflecha F), el paciente presenta hemorragia en el sitio del tumor y posteriormente se admite en el hospital. El paciente pierde aproximadamente 150mls de sangre y recibe 2 unidades de sangre este día y fluidos intravenosos/nutrición durante los siguientes 9 días.

5 Se mide el CRP el 4/8/2004, día 69 (Figura 7, como flecha G), y se encuentra que ha caído significativamente.

En el último día de hospitalización se examina el esófago del paciente endoscópicamente. No es evidente el tumor (Figura 7, como flecha H).

Interpretación

10 La respuesta inmune antineoplásica que oscila del paciente se libera a partir de la regulación por el objetivo de tiempo de células reguladoras específicas de tumor mediante la administración única de los agentes quimioterapéuticos en el tiempo ya designado. Esto es cuando las células reguladoras inmunes son clónicamente activas, en mitosis y así vulnerable a la subregulación. Una vez liberada la regulación la respuesta inmune antineoplásica resulta en un episodio febril como se reporta por el paciente en el día 66 y destrucción de tumor posterior. La destrucción de tumor mediada inmune resulta en hemorragia debido al involucramiento invasivo
15 potencial de tumor en el epitelio / pared del esófago.

Las acciones y observaciones anteriores demuestran lo siguiente:

- Es posible detectar una oscilación regular persistente en el paciente con cáncer.
- Esta oscilación se asociada con morbilidad de tumor.
- La oscilación tiene una periodicidad de aproximadamente 14 días con un subciclo de 7 días.
- 20 • El inicio y el final del ciclo se puede determinar mediante diferentes parámetros tales como pero no se limita a CRP, SAA, C3, C4 y niveles de antígeno de tumor.
- La ventana ancha de oportunidad para la aplicación de una administración única de quimioterapia se puede determinar.
- 25 • Una administración quimioterapéutica única en el tiempo correcto dirigido contra el sistema de inmune del paciente con cáncer puede conducir al resultado terapéutico exitoso.

Ejemplo 7

El paciente es una hembra de 71 años de edad designado "Mrs FO". Previamente la señora FO se diagnostica cáncer de ovario, que recibe cirugía y varias rondas de quimioterapia estándar. El paciente representa con CA125 elevado a 200U/ml antes de monitorear.

30 Se monitorea el paciente (flebotomía) cada Lunes, Miércoles & Viernes durante 4 semanas. Una oscilación regular y sincrónica cercana bien descrita y oscilación regular con una periodicidad de 7 /14 días que muestra una correlación cercana entre las mediciones de suero CRP, SAA & IL-2 (ver Figuras 8 y 9). De manera más interesante, la Figura 10 que muestra CRP & CA125 versus el tiempo, las oscilaciones CRP y CA125 son fuera de fase, que indica una relación inversa entre el sistema inmune y el marcador de cáncer.

35 La Figura 11 muestra la relación durante el tiempo entre SAA y el factor de complemento C3. Note que los dos picos C3 principales son aproximadamente 14 días aparte y coincide con picos SAA alternantes que también son aproximadamente 14 días aparte. Esto soporta una hipótesis que los picos de 7 día representan expansiones clonales de célula T y B alternantes y los picos C3 principales son células B asociadas con complemento se asocia con anticuerpos mediada por lisis. Esta observación puede asistir en establecer el inicio y el final de un ciclo y por lo
40 tanto también puede asistir en determinar el punto de intervención terapéutico.

Ejemplo 8

45 El paciente es un macho de 64 años de edad designado aquí "Mrs GA". El cáncer de intestino primero se diagnostica 1997, luego que el paciente se expone a cirugía, quimioterapia y radioterapia. La recurrencia del pulmón se diagnostica por biopsia de aguja en Febrero 2004. El paciente se determina por poseer múltiples lesiones y se somete a 12 rondas de quimioterapia. La última quimioterapia es en Septiembre 2004. La exploración más reciente

identificada por lo menos una lesión de 2 cm superior del pulmón izquierdo. Actualmente, relativamente bien/activo (a mediados de Octubre 2004).

Se toma sangre día de por medio (Lunes, Miércoles, Viernes) durante 15 días. Se mide CRP, con el resultado que muestra una oscilación CRP aproximada y regular de 7/14 días.

5 Ejemplo 9

Un paciente post menopáusico ooforectomizado (WB) con tumor reemergente y niveles CA125 elevados se pregunta que registra la frecuencia de resfriados o episodios febriles y los clasifica como suave, moderado o severo. La intensidad de estos episodios coincidió con una oscilación CRP de la respuesta inmune. Los episodios más intensos y su frecuencia incrementada son coincidentes con picos grandes. Así se puede utilizar la temperatura corporal registrada como un adyuvante para definir el inicio y o final de la oscilación de la respuesta inmune para los propósitos de tiempo de la aplicación de la terapia.

REFERENCIAS

- Adachi, S., Ogasawara, T., Ito, K., Koyama, M., et al (2001) *Oncol. Rep.* 8:285-288.
- Agelaki, S., Bania, H., Kouroussis, C., Blazoyiannakis, G., et al (2001) *Lung Cancer* 4:S77-80.
- 15 Ahmad, S.A., Patel, S.R., Ballo, M.T., Baker, T.P., et al (2002) *J. Clin. Oncol.* 20:521-527.
- Aitini, E., Rabbi, C., Mambrini, A., Cavazzini, G., et al (2001) *Tumori* 87:20-24.
- Amadori, D., Sansoni, E. and Amadori, A. (1997) *Frontiers in Bioscience* 2:20-26.
- Ashamalla, H., Zaki, B., Mokhtar, B., Colella, F., et al (2003) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 55:679-687.
- Atkins, M.B., Gollob, J.A., Sosman, J.A., McDermott, D.F., et al (2002) *Clin. Cancer Res.* 8:3075-3081.
- 20 Aziz, M., Akhtar, S. and Malik, A. (1998) *cáncer Detect. Prev.* 22:87-99.
- Bafaloukos, D., Aravantinos, G., Fountzilias, G., Stathopoulos, G., et al (2002) *Oncology* 63:333-337.
- Bafaloukos, D., Gogas, H., Georgoulas, V., Briassoulis, E., et al (2002) *J. Clin. Oncol.* 20:420-425.
- Bar Sela, G., Tsalic, M., Gaitini, D., Steiner, M., et al (2002) *J. Chemother.* 14:623-626.
- Beck, T.M., Curtis, P.W., Woodard, D.A., Hart, N.E., et al (1984) *Cancer Treat. Rep.* 68:647-650.
- 25 Bedikian, A.Y., Weiss, G.R., Legha, S.S., Burris, H.A., et al (1995) *J. Clin. Oncol.* 13:2895-2899.
- Beerblock, K., Rinaldi, Y., Andre, T., Louvet, C., et al (1997) *Cancer* 79:1100-1105.
- Belli F, Testori A, Rivoltini L, Maio M, et al. (2002) *J Clin Oncol.* 20:4169-4180.
- Berd D, Sato T, Cohn H, Maguire HC Jr, Mastrangelo MJ. (2001) *Int J Cancer.* 94:531-539.
- Blanke, C.D., Kasimis, B., Schein, P., Capizzi, R., et al (1997) *J. Clin. Oncol.* 15:915-920.
- 30 Buzaid, A.C., Colome, M., Bedikian, A., Eton, O., et al (1998) *Melanoma Res.* 8:549-556.
- Calvo, E., Cortes, J., Rodriguez, J., Fernandez-Hidalgo, O., et al (2002) *Clin. Colorectal Cancer* 2:104-110.
- Carr, B.I., Zajko, A., Bron, K., Orons, P., et al (1997) *Semin. Oncol.* 24:S6-97-S6-99.
- Cascinu, S., Silva, R.R., Labianca, R., Barni, S., et al (1999) *Ann. Oncol.* 10:985-987.
- Cassinello, J., Escudero, P., Salud, A., Marcos, F., et al (2003) *Clin. Colorectal Cancer* 3:108-112.

- Cassinello, J., Lopez-Alvarez, P., Martinez-Guisado, A., Valladares, M., et al (2003) *Med. Oncol.* 20:37-43.
- Chahinian, A.P., Antman, K., Goutsou, M., Corson, J.M., et al (1993) *J. Clin. Oncol.* 11:1559-1165.
- Chapman, P.B., Panageas, K.S., Williams, L., Wolchok, J.D., et al (2002) *Melanoma Res.* 12:381-387.
- Cho, E.K., Lee, W.K., Lim do, Y., Bang, S.M., et al (2002) *J. Korean Med. Sci.* 17:348-352.
- 5 Choi, T.K., Lee, N.W. y Wong, J. (1984) *Cancer* 53:401-405.
- Comella, P., De Vita, F., Mancarella, S., De Lucia, L., et al (2000) *Ann. Oncol.* 11:1323-1333.
- Comella, P., Lorusso, V., Casaretti, R., De Lucia, L., et al (1999) *Tumori.* 85:465-472.
- Constenla, M., Garcia-Arroyo, R., Lorenzo, I., Carrete, N., et al (2002) *Gastric Cancer* 5:142-147.
- Covens, A., O'Connell, G., Rusthoven, J. and Mazurka, J. (1992) *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 13:125-130.
- 10 Dieras, V., Bougnoux, P., Petit, T., Chollet, P., et al (2002) *Ann. Oncol.* 13:258-266.
- DiPaola, R.S., Rubin, E., Toppmeyer, D., Eid, J., et al (2003) *Med. Sci. Monit.* 9:P15-11.
- Eda, S., Kaufmann, J., Roos, W. and Phol, S. (1998) *J. Clin. Lab. Analysis* 12:137-144.
- Einzig, A.I. (1994) *Ann. Oncol.* 6:S29-32.
- Einzig, A.I., Hochster, H., Wiernik, P.H., Trump, D.L., et al (1991) *Invest New Drugs* 9:59-64.
- 15 Einzig, A.I., Schuchter, L.M., Recio, A., Coatsworth, S., et al (1996) *Med. Oncol.* 13:111-117.
- Faivre, S., Le Chevalier, T., Monnerat, C., Lokiec, F., et al (2002) *Ann. Oncol.* 13:1479-1489.
- Falcone, A., Allegrini, G., Masi, G., Lencioni, M., et al (2001) *Oncology* 61:28-35.
- Forastiere, A.A., Gennis, M., Orringer, M.B. and Agha, F.P. (1987) *J. Clin. Oncol.* 5:1143-1149.
- Fountzilias, G., Karavelis, A., Capizzello, A., Kalogera-Fountzila, A., et al (1999) *J. Neurooncol.* 45:159-165.
- 20 Frasci, G., D'Aiuto, G., Comella, P., Thomas, R., et al (2002) *Oncology* 62:25-32.
- Freyer, G., Delozier, T., Lichinister, M., Gedouin, D., et al (2003) *J. Clin. Oncol.* 21:35-40.
- Fumoleau, P., Delgado, F.M., Delozier, T., Monnier, A., et al (1993) *J. Clin. Oncol.* 11:1245-1252.
- Gamelin, E., Boisdrion-Celle, M., Delva, R., Regimbeau, C., et al (1998) *J. Clin. Oncol.* 16:1470-1478.
- Gebbia, V., Blasi, L., Borsellino, N., Caruso, M., et al (2003) *Anticancer Res.* 23:765-771.
- 25 Gibbs, P., Iannucci, A., Becker, M., Allen, J., et al (2000) *Melanoma Res.* 10:171-179.
- Ginopoulos, P., Mastronikolis, N.S., Giannios, J., Karana, A., et al (1999) *Lung cancer* 23:31-37.
- Glimelius, B., Ristamaki, R., Kjaer, M., Pfeiffer, P., et al (2002) *Ann. Oncol.* 13:1868-1873.
- Gomez-Bernal, A., Cruz, J.J., Garcia-Palomo, A., Arizcun, A., et al (2003) *Am. J. Clin. Oncol.* 26:127-131.
- Goorin, A.M., Harris, M.B., Bernstein, M., Ferguson, W., et al (2002) *J. Clin. Oncol.* 20:426-433.
- 30 Grem, J.L., Jordan, E., Robson, M.E., Binder, R.A., et al (1993) *J. Clin. Oncol.* 11:1737-1745.
- Guastalla, J.P., Vermorken, J.B., Wils, J.A., George, M., et al (1994) *Eur. J. Cancer* 30A:45-49.

- Gundersen, S. and Flokkmann, A. (1989) *Cancer* 64:1617-1619.
- Henss, H., Fiebig, H.H., Schildge, J., Arnold, H., et al (1988) *Onkologie* 11:118-120.
- Hofheinz, R.D., Hartung, G., Samel, S., Hochhaus, A., et al (2002) *Onkologie* 25:255-260.
- Horvath, M., Fekete, B. and Rahoty, P. (1982) *Oncology* 39:20-22.
- 5 Hudes, G.R., Nathan, F., Khater, C., Haas, N., et al (1997) *J. Clin. Oncol.* 15:3156-3163.
- Hurteloup, P., Armand, J.P., Cappelaere, P., Metz, R., et al (1986) *Cancer Treat. Rep.* 70:731-737.
- Ibrahim, N.K., Rahman, Z., Valero, V., Willey, J., et al (1999) *Cancer* 86:1251-1257.
- Jeen, Y.T., Yoon, S.Y., Shin, S.W., Kim, B.S., et al (2001) *Cancer* 91:2288-2293.
- Jeremic, B., Acimovic, L. y Mijatovic, L. (1993) *Cancer* 71:2706-2708.
- 10 Johnson, D.H., Presant, C., Einhorn, L., Bartolucci, A.A., et al (1985) *Cancer Treat. Rep.* 69:821-824.
- Kakolyris, S., Kourousis, C., Koukourakis, M., Androulakis, N., et al (1999) *Am. J. Clin. Oncol.* 22:568-572.
- Kakolyris, S., Kouroussis, C., Koukourakis, M., Marvroudis, D., et al (2002) *Oncology* 63:213-218.
- Kelly, W.K., Curley, T., Slovin, S., Heller, G., et al (2001) *J. Clin. Oncol.* 19:44-53.
- Kikuyama, S., Inada, T., Oyama, R. and Ogata, Y. (2002) *Anticancer Res.* 22:3633-3636.
- 15 Kim, T.W., Kang, Y.K., Ahn, J.H., Chang, H.M., et al (2002) *Ann. Oncol.* 13:1893-1898.
- Kimura, M., Tomita, Y., Imai, T., Saito, T. et al. (2001) *Cancer* 92:2072-2075.
- Kindler, H.L., Belani, C.P., Herndon, J.E., Vogelzang, N.J., et al (1999) *Cancer* 86:1985-1991.
- Kjorstad, K., Harris, A., Bertelsen, K., Slevin, M., et al (1992) *Ann. Oncol.* 3:217-222.
- Kollmannsberger, C., Quietzsch, D., Haag, C., Lingenfeller, T., et al (2000) *Br. J. cáncer* 83:458-462.
- 20 Komek, G.V., Haider, K., Kwasny, W., Lang, F., et al (1998) *Br. J. Cancer* 78:673-678.
- Komek, G.V., Raderer, M., Schull, B., Fiebiger, W., et al (2002) *Br. J. Cancer* 86:1858-1863.
- Kosmas, C., Tsavaris, N., Malamos, N., Stavroyianni, N., et al (2003) *Br. J. Cancer* 88:1168-1174.
- Kouroussis, C., Souglakos, J., Kakolyris, S., Mavroudis, D., et al (2001) *Oncology* 61:36-41.
- Leung, T.W., Patt, Y.Z., Lau, W.Y., Ho, S.K., et al (1999) *Clin. cáncer Res.* 5:1676-1681.
- 25 Li, J.D., Guan, Z.Z., Liu, J.H., Xin, X.Y., et al (2002) *Ai Zheng* 21:416-420.
- Lissoni, A., Zanetta, G., Losa, G., Gabriele, A., et al (1996) *Ann. Oncol.* 7:861-863. Liu, J.H., Yang, M.H., Fan, F.S., Yen, C.C., et al (2001) *Urology* 57:650-654.
- Liuzzo, G., Biasucci, L.M., Gallimore, J.R., Grillo, R.L. et al. (1994) *New Engl. J. Med.* 331:417-424.
- LoRusso, P., Pazdur, R., Redman, B.G., Kinzie, J., et al (1989) *Am. J. Clin. Oncol.* 12:486-490.
- 30 Lotem M, Shiloni E, Pappo I, Drize O, et al. (2004) *Br J cáncer* 90:773-780. Louvet, C., Andre, T., Tigaud, J.M., Gamelin, E., et al (2002) *J. Clin. Oncol.* 20:4543-4548.
- Manetta, A., Boyle, J., Berman, M.L., DiSaia, P.J., et al (1994) *cáncer* 73:196-199.

- Mariotta, S., Sposato, B., Li Bianchi, E., Fiorucci, F., et al (2002) *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 6:49-54.
- Mbidde, E.K., Harland, S.J., Calvert, A.H. and Smith, I.E. (1986) *Cancer Chemother. Pharmacol.* 18:284-285.
- McClay, E.F., Braly, P.D., Kirmani, S., Plaxe, S.C., et al (1995) *Am. J. Clin. Oncol.* 18:23-26.
- Meropol, N.J., Niedzwiecki, D., Hollis, D., Schilsky, R.L., et al (2001) *Cancer* 91:1256-1263.
- 5 Michelotti, A., Gennari, A., Salvadori, B., Giannessi, P.G., et al (1996) *Semin. Oncol.* 23:38-40.
- Monnet, I., Breau, J.L., Moro, D., Lena, H., et al (2002) *Chest* 121:1921-1927.
- Morabito, A., Filippelli, G., Palmeri, S., Cascinu, S., et al (2003) *Breast Cancer Res. Treat.* 78:29-36.
- Morris, M., Brader, K.R., Levenback, C., Burke, T.W., et al (1998) *J. Clin. Oncol.* 16:1094-1098.
- Murad, A.M., Guimaraes, R.C., Aragao, B.C., Rodrigues, V.H., et al (2003) *Am. J. Clin. Oncol.* 26:151-154.
- 10 Murad, A.M., Petrioanu, A., Guimaraes, R.C., Aragao, B.C., et al (1999) *Am. J. Clin. Oncol.* 22:580-586.
- Nathan, F.E., Berd, D., Sato, T. and Mastrangelo, M.J. (2000) *Cancer* 88:79-87.
- Neri, B., Doni, L., Fulignati, C., Perfetto, F., et al (2002) *Anticancer Drugs* 13:719-724.
- Neri, B., Gemelli, M.T., Pantalone, D., Pernice, M.L., et al (1998) *Anticancer Drugs* 9:599-602. North, R. J. y Awwad, M. (1990) *Immunology* 71:90-95.
- 15 Nystrom, M.L., Steele, J.P., Shamash, J., Neville, F., et al (2003) *Melanoma Res.* 13:197-199.
- O'Hanlon, D.M., Lynch, J., Cormican, M. y Given, H.F. (2002) *Anticancer Res.* 22:1289-1294.
- O'Hara, R., Murphy, E.P., Whitehead, A.S., Fitzgearld, O. and Bresnihan, B. (2000) *Arthritis Research* 2:142-144.
- Okuno, S.H., Mailliard, J.A., Suman, V.J., Edmonson, J.H., et al (2002) *Cancer* 94:2224-2231.
- Onizuka, S., Tawara, I., Shimizu, J., Sakaguchi, S., et al (1999) *Cancer Res.* 59:3128-3133.
- 20 Oon, C.J., Chua, E.J., Foong, W.C., Tan, L.K., et al (1980) *Ann. Acad. Med. Singapore* 9:256-259.
- Ozols, R.F., Speyer, J.L., Jenkins, J. and Myers, C.E. (1984) *Cancer Treat. Rep.* 68:1229-1232.
- Paccagnella, A., Favaretto, A., Oniga, F., Festi, G., et al (1996) *Cancer* 78:1701-1707.
- Patt, Y.Z., Hassan, M.M., Lozano, R.D., Brown, T.D., et al (2003) *J. Clin. Oncol.* 21:421-427.
- Pectasides, D., Dimopoulos, M.A., Aravantinos, G., Kalophonos, H.P., et al (2001) *Anticancer Res.* 21:3575-3580.
- 25 Pemp, R.P., Shih, J.F., Chen, Y.M., Delgado, F.M., et al (2000) *Am. J. Clin. Oncol.* 23:60-64.
- Peterson, K.E., Strommes, I., Messer, R., Hasenkrug, K. and Chesebro, B. (2002) *J. Virol.* 76:7942-7948.
- Petrelli, N.J., Madejewicz, S., Rustum, Y., Herrera, L., et al (1989) *Cancer Chemother. Pharmacol.* 23:57-60.
- Picus, J. and Schultz, M. (1999) *Semin. Oncol.* 26:14-18.
- Pinto, C., Marino, A., Guaraldi, M., Melotti, B., et al (2001) *Am. J. Clin. Oncol.* 24:143-147.
- 30 Planner, R.S., Allen, D.G., Brand, A.H., Grant, P.T., et al (1996) *Aust N.Z. J. Obstet. Gynaecol.* 36:168-170.
- Planting, A.S., van der Burg, M.E., Goey, S.H., Schellens, J.H., et al (1995) *Ann. Oncol.* 6:613-615.

- Pohl, J., Zuna, I., Stremmel, W. and Rudi, J. (2001) *Chemotherapy* 47:359-365.
- Porta, C., Moroni, M., Nastasi, G. and Arcangeli, G. (1995) *Oncology* 52:487-491.
- Posner, M., Martin, A., Slapak, C.A., Clark, J.W., et al (1992) *Am. J. Clin. Oncol.* 15:239-241.
- Price, C.P., Trull, A.K., Berry, D. and Gorman, E.G. (1987) *J. Immunol. Methods* 99:205-211.
- 5 Pyrhonen, S.O. and Kouri, M.O. (1992) *Eur. J. Cancer* 28A:1828-1832.
- Raghavan, D., Gianoutsos, P., Bishop, J., Lee, J., et al (1990) *J. Clin. Oncol.* 8:151-154.
- Read, S., Malmstrom, V. and Powrie, F. (2000) *J. Exp. Med.* 192:295-302.
- Recchia, F., Lombardo, M., De Filippis, S., Rosselli, M., et al (2002) *Anticancer Res.* 22:1321-1328.
- Reina, J.J., Aparicio, J., Salvador, J., Pica, J.M., et al (2003 in press) *Cancer Chemother. Pharmacol.*
- 10 Retsas, S., Mohith, A. y Mackenzie, H. (1996) *Anticancer Drugs* 7:161-165.
- Rodriguez-Galindo, C., Daw, N.C., Kaste, S.C., Meyer, W.H., et al (2002) *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 24:250-255.
- Romero, A., Rabinovich, M.G., Vallejo, C.T., Perez, J.E., et al (1994) *J. Clin. Oncol.* 12:336-341.
- Romero, A.O., Perez, J.E., Cuevas, M.A., Lacava, J.A., et al (1998) *Am. J. Clin. Oncol.* 21:94-98.
- Rose, P.G., Blessing, J.A., Ball, H.G., Hoffman, J., et al (2003) *Gynecol. Oncol.* 88:130-135.
- 15 Rosenthal, M.A., Gruber, M.L., Glass, J., Nirenberg, A., et al (2000) *J. Neurooncol.* 47:59-63.
- Safran, H., Dipetrillo, T., Iannitti, D., Quirk, D., et al (2002) *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 54:137-141.
- Sakata, Y., Ohtsu, A., Horikoshi, N., Sugimachi, K., et al (1998) *Eur. J. Cancer* 34:1715-1720.
- Salomon, B., Lenschow, D. J., Rhee, L., Ashourian, N., et al (2000) *Immunity* 12:431-440.
- Savarese, D., Taplin, M.E., Halabi, S., Hars, V., et al (1999) *Semin. Oncol.* 26:39-44.
- 20 Savarese, D.M., Halabi, S., Hars, V., Akerley, W.L., et al (2001) *J. Clin. Oncol.* 19:2509-2516.
- Scheithauer, W., Komek, G.V., Raderer, M., Schull, B., et al (2002) *Ann. Oncol.* 13:1583-1589.
- Schomagel, J.H., Verweij, J., ten Bokkel Huinink, W.W., Klijn, J.G., et al (1989) *J. Urol.* 142:253-256.
- Sehouli, J., Stengel, D., Oskay, G., Camara, O., et al (2002) *Ann. Oncol.* 13:1749-1755.
- Senju, O., Takagi, Y., Gomi, K., Ishii, N., et al. (1983) *Jap. J. Clin. Lab. Automation* 8:161-165.
- 25 Sherman, W.H. and Fine, R.L. (2001) *Oncology* 60:316-321.
- Shimizu, J., Yamazaki, S. and Sakaguchi, S. (1999) *J. Immunol.* 163:5211-5218.
- Shimizu, J., Yamazaki, S., Takahashi, T., Ishida, Y. and Sakaguchi, S. (2002) *Nature Immunol.* 3:135-142.
- Sinnige, H.A., Sleijfer, D.T., de Vries, E.G., Willemse, P.H., et al (1990) *Eur. J. cáncer* 26:625-628.
- Small, E.J., Bok, R., Reese, D.M., Sudilovsky, D., et al (2001) *Semin. Oncol.* 28:71-76.
- 30 Smithers M, O'Connell K, MacFadyen S, Chambers M, et al. (2003) *Cancer Immunol Immunother.* 52:41-52.
- Sobrero, A.F., Aschele, C., Guglielmi, A.P., Mori, A.M., et al (1995) *Clin. Cancer Res.* 1:955-960.

- Stathopoulos, G.P., Rigatos, S.K., Pergantas, N., Tsavdarides, D., et al (2002) *J. Clin. Oncol.* 20:37-41.
- Sugimachi, K. and Maehara, Y. (2000) *Surg. Today* 30:1067-1072.
- Suri-Payer, E. and Cantor, H. (2001) *J. Autoimmunity* 16:115-23.
- Sutmuller, R. P., van Duivenvoorde, L. M., van Elsas, A., Schumacher, T. N. et al (2001) *J. Exp. Med.* 194:823-832.
- 5 Sutton, G.P., Blessing, J.A., Homesley, H.D. and Malfetano, J.H. (1994) *Gynecol. Oncol.* 53:24-26.
- Takahashi, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Uede, T. et al (2000) *J. Exp. Med.* 192:303-310.
- Takasugi, B.J., Robertone, A.B., Salmon, S.E., Jones, S.E., et al (1984) *Invest New Drugs* 2:387-390.
- Takeuchi, S., Dobashi, K., Fujimoto, S., Tanaka, K., et al (1991) *Gan to Kagaku Ryoho* 18:1681-1689.
- Thomas, G.W., Muss, H.B., Jackson, D.V., McCulloch, J., et al (1994) *Cancer Chemother. Pharmacol.* 35:165-168.
- 10 Trefzer U, Herberth G, Wohlan K, Milling A, et al. (2004) *Int J Cancer* 110:730-740.
- Trivedi, C., Redman, B., Flaherty, L.E., Kucuk, O., et al (2000) *Cancer* 89:431-436.
- Tsavaris, N., Primikrios, N., Mylonakis, N., Varouchakis, G., et al (1997) *Anticancer Res.* 17:3799-3802.
- Twelves, C.J., Dobbs, N.A., Curnow, A., Coleman, R.E., et al (1994) *Br. J. Cancer* 70:990-993.
- Valdivieso, M., Bedikian, A.Y., Bodey, G.P. and Freireich, E.J. (1981) *Cancer Treat. Rep.* 65:877-879.
- 15 Weinstein, P.S., Skinner, M., Sipe, J.D., Lokich, J.J. et al. (1984) *Scand. J. Immunol.* 19:193-198.
- Wittig B, Marten A, Dorbic T, Weineck S, et al. (2001) *Hum Gene Ther.* 12:267-278.
- Yamada, Y., Shirao, K., Ohtsu, A., Boku, N., et al (2001) *Ann. Oncol.* 12:1133-1137.
- Yogelzang, N.J., Herndon, J.E., Cirrincione, C., Harmon, D.C., et al (1997) *Cancer* 79:2237-2242.
- Zeng, Z.C., Tang, Z.Y., Liu, K.D., Lu, J.Z., et al (1998) *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 124:275-280.

REIVINDICACIONES

1. Un método para analizar el ciclo del sistema inmune para determinar cuándo se debe administrar un agente a un paciente que sufre de una enfermedad caracterizado por la producción de células T reguladoras, el método comprende monitorear muestras obtenidas del paciente para una oscilación regular de por lo menos uno de: a) números de células T efectoras y/o actividad, b) números de células T reguladoras y/o actividad, c) una molécula marcadora asociada con la enfermedad, y/o d) un marcador del sistema inmune, en donde el agente inhibe la producción de, limita la función de, y/o destruye, las células T reguladoras, y en donde el agente se selecciona del grupo que consiste de fármacos antiproliferativos, radiación, dsARN y anticuerpos que inhiben la producción y/o actividad de células T reguladoras, y en donde la enfermedad es cáncer o una infección, y en donde el momento cuando se debe administrar el agente se selecciona de tal manera que el agente ejerce un efecto proporcionalmente mayor contra las células T reguladoras que las células T efectoras.
2. Uso de un agente en la fabricación de una composición para el tratamiento de la enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras, en donde un paciente que sufre de la enfermedad se ha analizado para el ciclo del sistema inmune al monitorear el paciente para una oscilación regular de por lo menos uno de:
- a) número y/o actividad de células T reguladoras,
- b) número y/o actividad de células T efectoras,
- c) una molécula marcadora asociada con la enfermedad, y/o
- d) un marcador de sistema inmune, y
- en donde el tiempo de administración del agente para tratar la enfermedad se selecciona de tal manera que el agente ejerce un efecto proporcionalmente mayor contra las células T reguladoras que las células T efectoras, en donde el agente inhibe la producción de, limita la función de, y/o destruye, células T reguladoras, y en donde el agente se selecciona del grupo que consiste de fármacos antiproliferativos, radiación, dsARN y anticuerpos que inhiben la producción y/o actividad de células T reguladoras, y en donde la enfermedad es cáncer o una infección.
3. El método de la reivindicación 1 o el uso de la reivindicación 2, en donde la infección es una infección persistente crónica caracterizado por el sistema inmune de los pacientes que no es capaz de eliminar la infección.
4. El método o el uso de la reivindicación 3, en donde el paciente se infecta con VIH o virus de la Hepatitis C.
5. El método de acuerdo con una cualquiera de la reivindicaciones 1, 3 o 4 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en donde el marcador del sistema inmune refleja el número y/o actividad de células T reguladoras, y/o el número y/o actividad de células T efectoras.
6. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 o 4 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en donde el marcador del sistema inmune es un marcador inflamatorio de fase aguda.
7. El método o el uso de la reivindicación 6, en donde el marcador inflamatorio de fase aguda se selecciona del grupo que consiste de amiloide A de suero, amiloide P de suero y proteína reactiva c.
8. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-7 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-7, en donde las células T reguladoras son células T CD4+CD8-.
9. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde se administra el agente aproximadamente cuando se detectan las células T CD4+ CD8-.
10. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en donde las células T efectoras son células T CD8+CD4-.
11. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde se administra el agente aproximadamente cuando ha alcanzado los números pico de célula T CD8+ CD4-.
12. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8 o 10 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-11, en donde la molécula marcadora asociada con el cáncer es un antígeno producido por una célula cancerígena.

13. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8 o 10 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-11, en donde la molécula marcadora asociada con la infección es un antígeno producido por un agente infeccioso.
- 5 14. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde se administra el agente aproximadamente cuando los niveles de la molécula marcadora asociada con el cáncer o infección empieza a disminuir.
15. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 o 4 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en donde se monitorea el paciente para un marcador inflamatorio de fase aguda, y una molécula marcadora asociada con el cáncer o infección.
- 10 16. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8, 10, 12, 13 o 15 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-15, en donde se monitorea el paciente durante un periodo de por lo menos 21 días.
- 15 17. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8, 10, 12, 13, 15 o 16 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-16, el paciente se monitorea por lo menos aproximadamente cada 3 días.
18. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8, 10, 12, 13 o 15-17 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-17, en donde el fármaco antiproliferativo se selecciona del grupo que consiste de taxol, vincristina, vinblastina y vinblastina anhidro.
- 20 19. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8, 10, 12, 13 o 15-17 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-17, en donde el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste de: anti-CD4+, anti-CTLA-4 (antígeno-4 asociado a linfocito citotóxico), anti-GITR (receptor del factor de necrosis de tumor inducido por glucocorticoide), anti-CD28 y anti-CD25.
- 25 20. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8, 10, 12, 13 o 15-19 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-19, en donde el paciente no se ha expuesto a un tratamiento para el cáncer o infección durante por lo menos 21 días.
- 30 21. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3-8, 10, 12, 13 15-20 o el uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-20, en donde el paciente es un humano.
- 35 22. Un método para determinar cuándo se debe administrar una vacuna a un paciente que sufre de una enfermedad caracterizado por la producción de células T reguladoras, el método comprende monitorear muestras obtenidas del paciente, para una oscilación regular de por lo menos uno de: a) números de células T efectoras y/o actividad, b) números de células T reguladoras y/o actividad, c) una molécula marcadora asociada con la enfermedad, y/o d) un marcador de sistema inmune, y en donde la enfermedad es cáncer o una infección, y en donde el tiempo de cuando la vacuna se debe administrar se selecciona de tal manera que la vacuna inocular la respuesta inmune innata, produce números incrementados y/o actividad de células T efectoras, antes de la emergencia de células T reguladoras.
- 40 23. Uso de una vacuna en la fabricación de una composición para el tratamiento de una enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras, en donde un paciente que amortigua la enfermedad se ha analizado para el ciclo del sistema inmune al monitorear el paciente para una oscilación regular de por lo menos uno de:
- 45 a) número y/o actividad de células T reguladoras,
- b) número y/o actividad de células T efectoras,
- c) una molécula marcadora asociada con la enfermedad, y/o
- d) un marcador de sistema inmune, y en donde el tiempo de administración de la vacuna para tratar la enfermedad se selecciona de tal manera que la vacuna inocular la respuesta inmune innata, produce números incrementados y/o actividad de células T efectoras, antes de la emergencia de células T reguladoras, y en donde la enfermedad es cáncer o una infección.
24. El uso de la reivindicación 23, en donde la vacuna se administra aproximadamente cuando se incrementan los niveles de células T efectoras.

25. El uso de la reivindicación 23, en donde la vacuna se administra aproximadamente cuando los niveles de una molécula marcadora asociada con la enfermedad empiezan a disminuir.

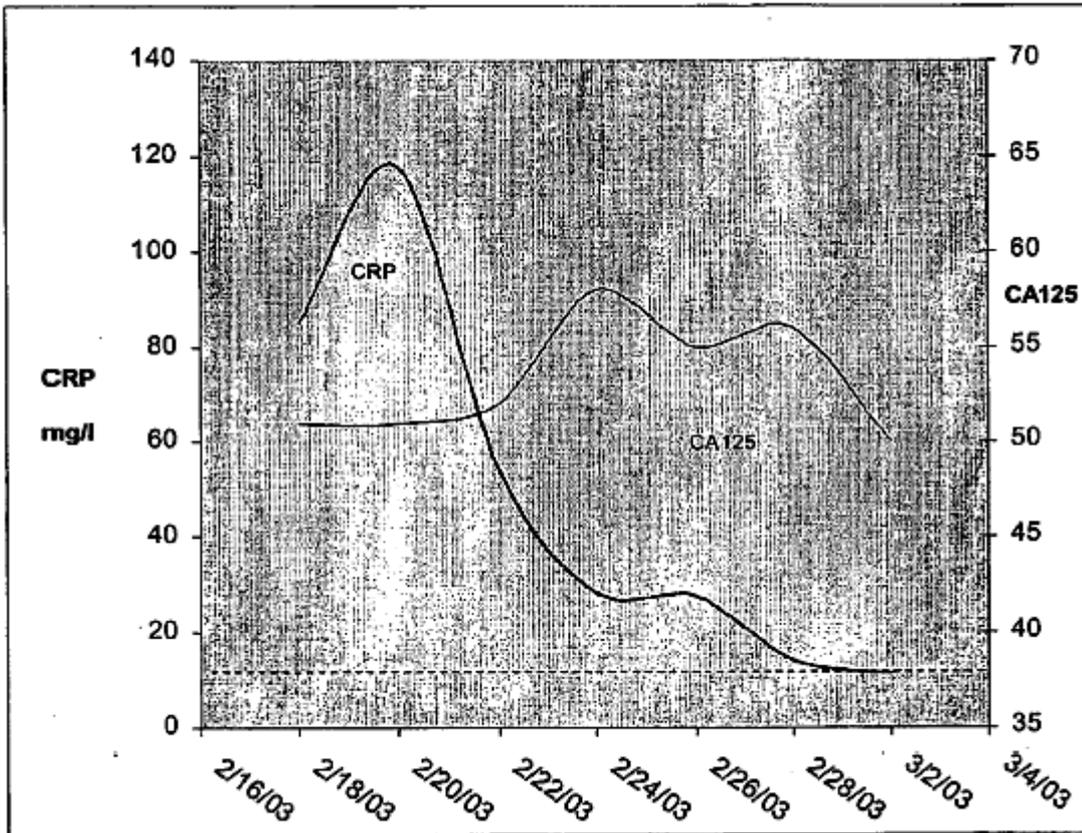


Figura 1A

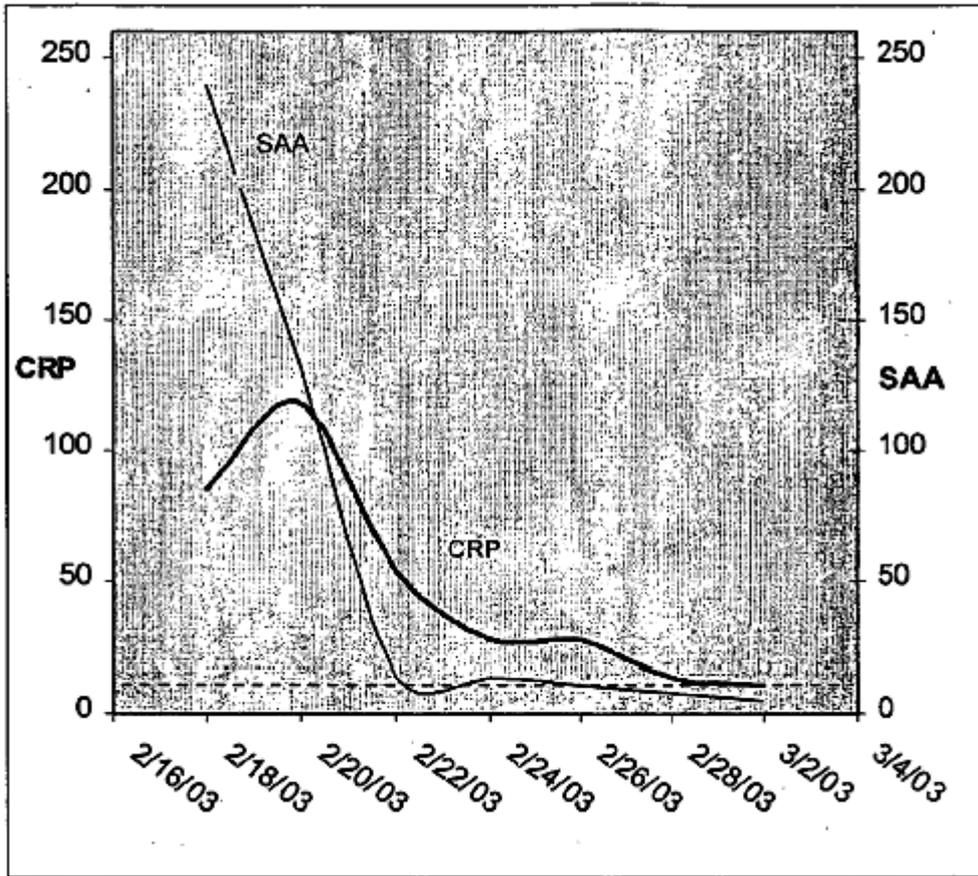


Figura 1B

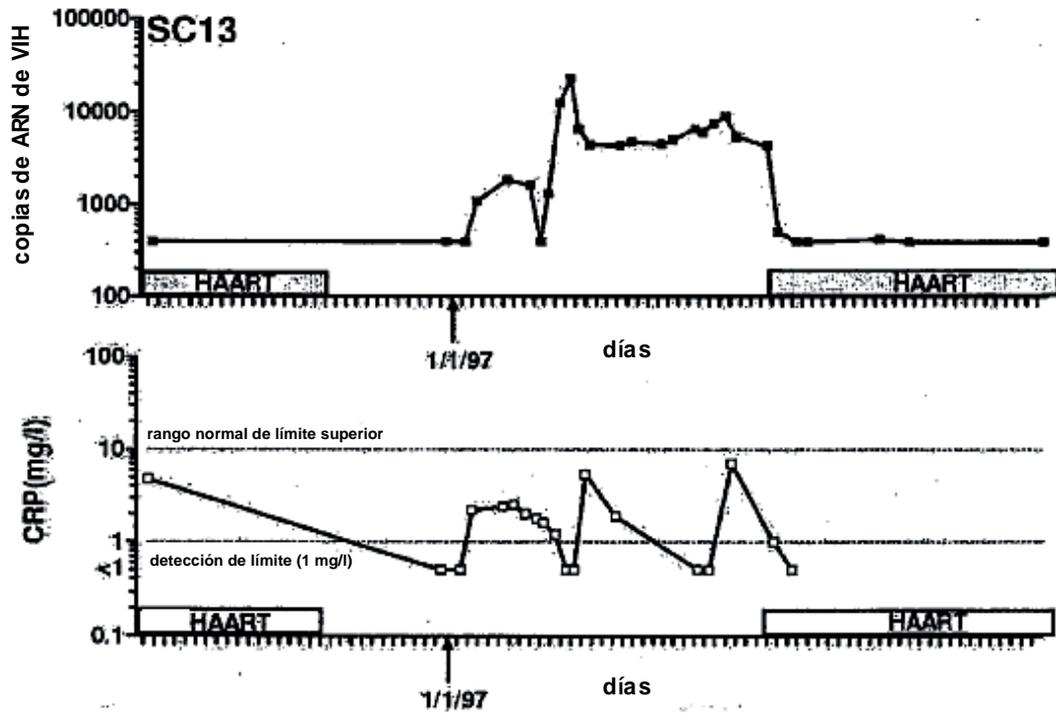


Figura 2

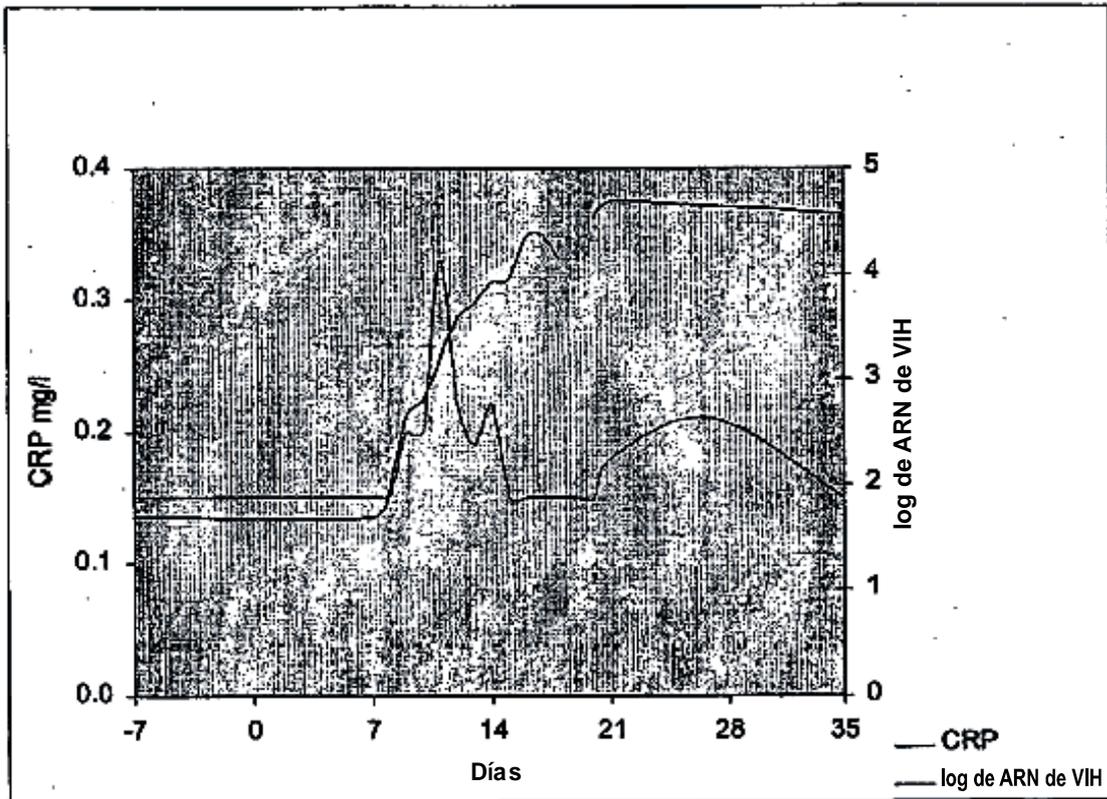


Figura 3

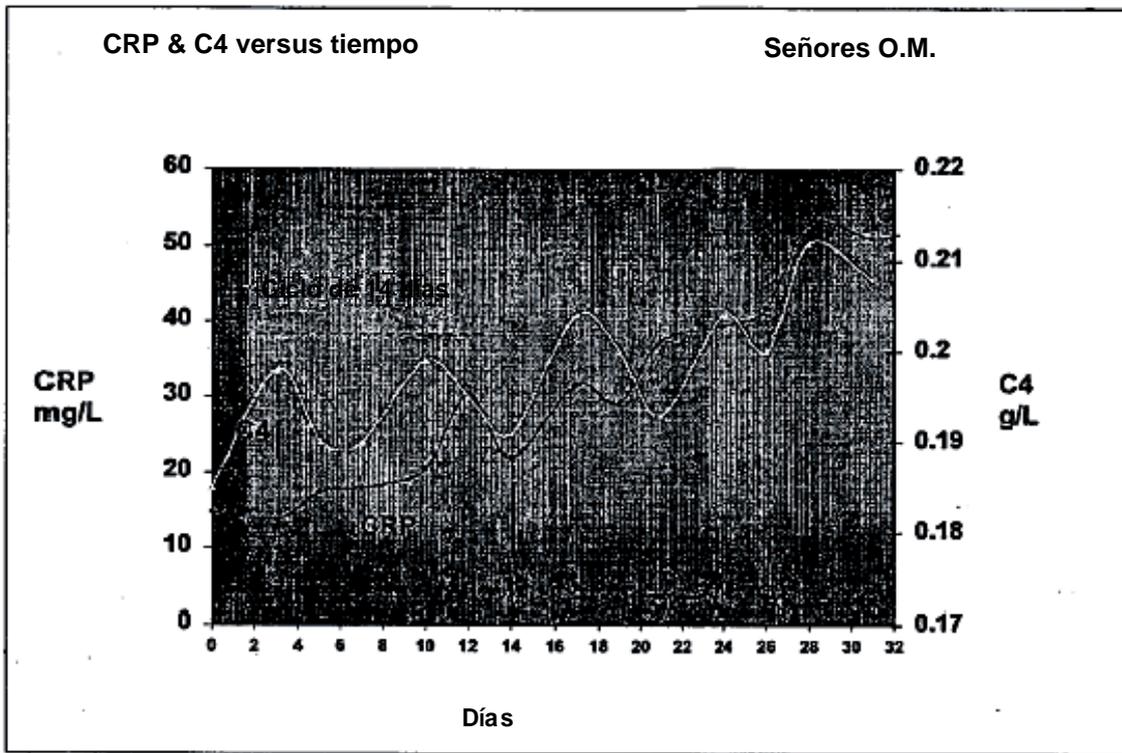


Figura 4

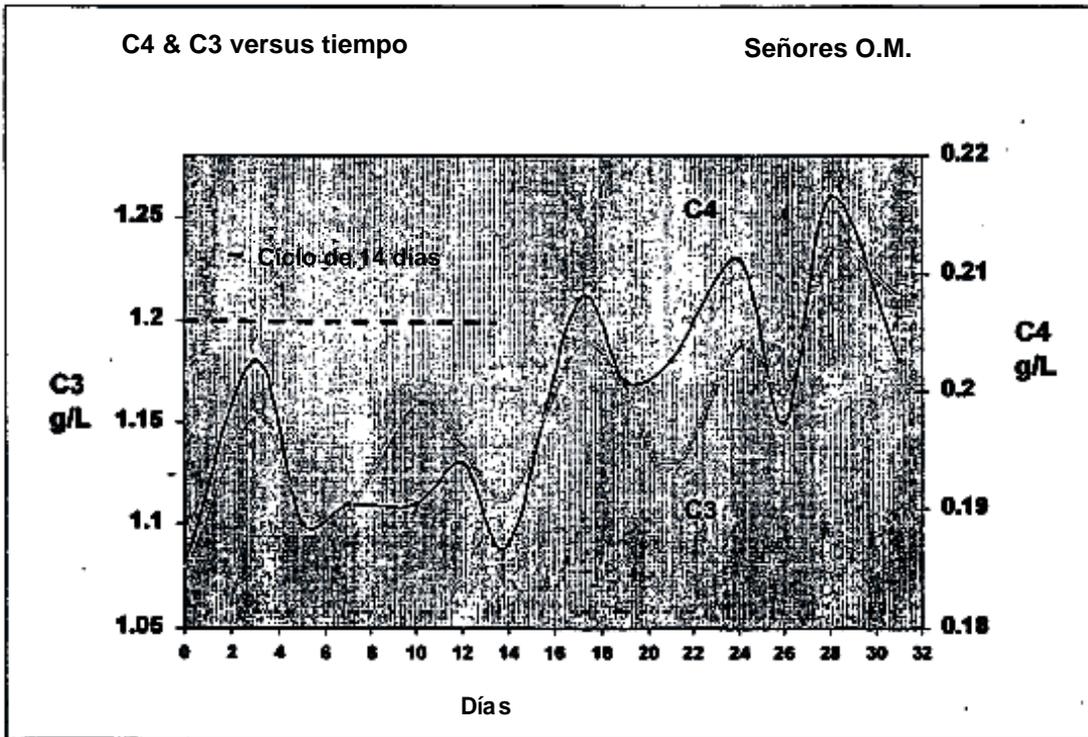


Figura 5

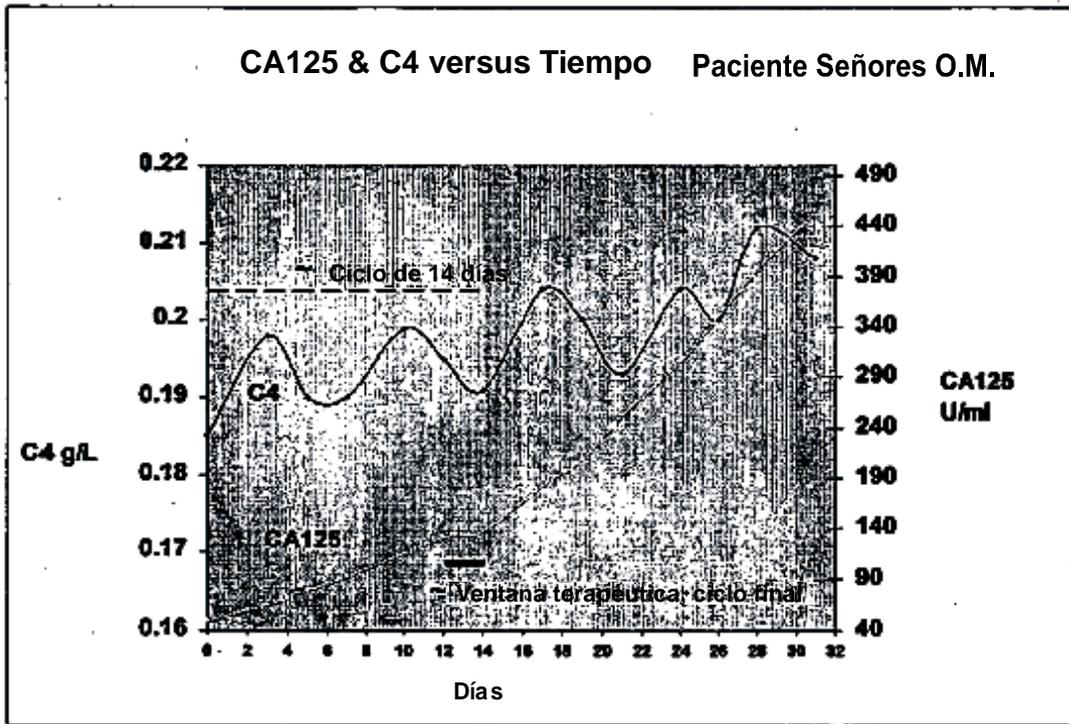


Figura 6

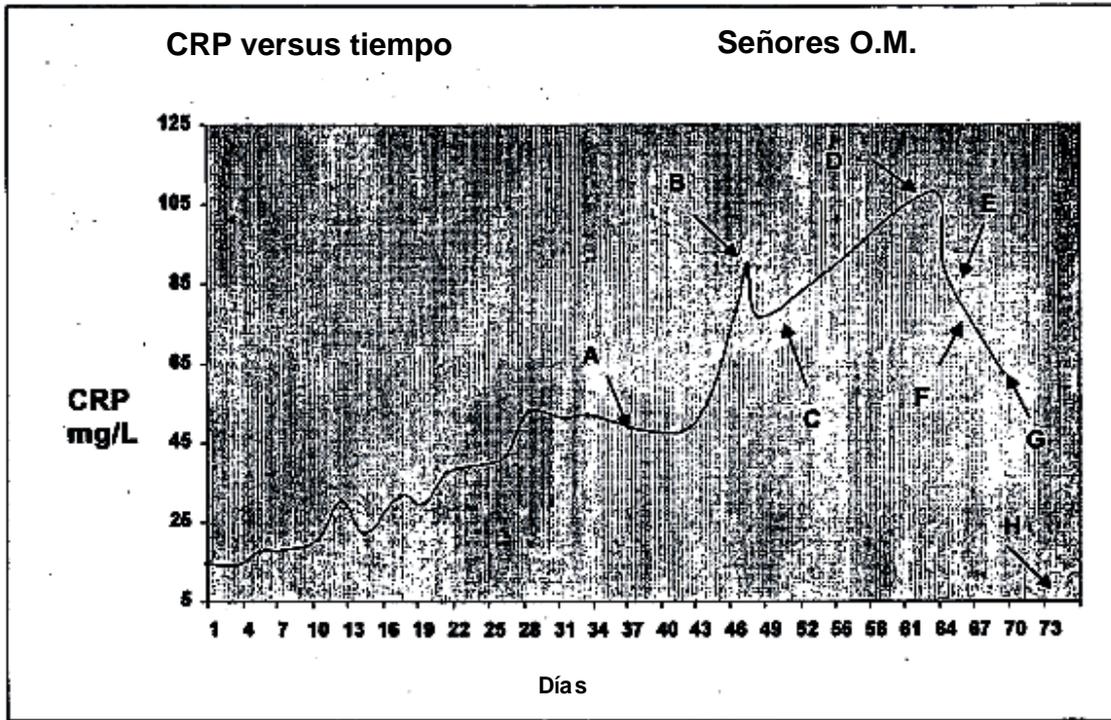


Figura 7

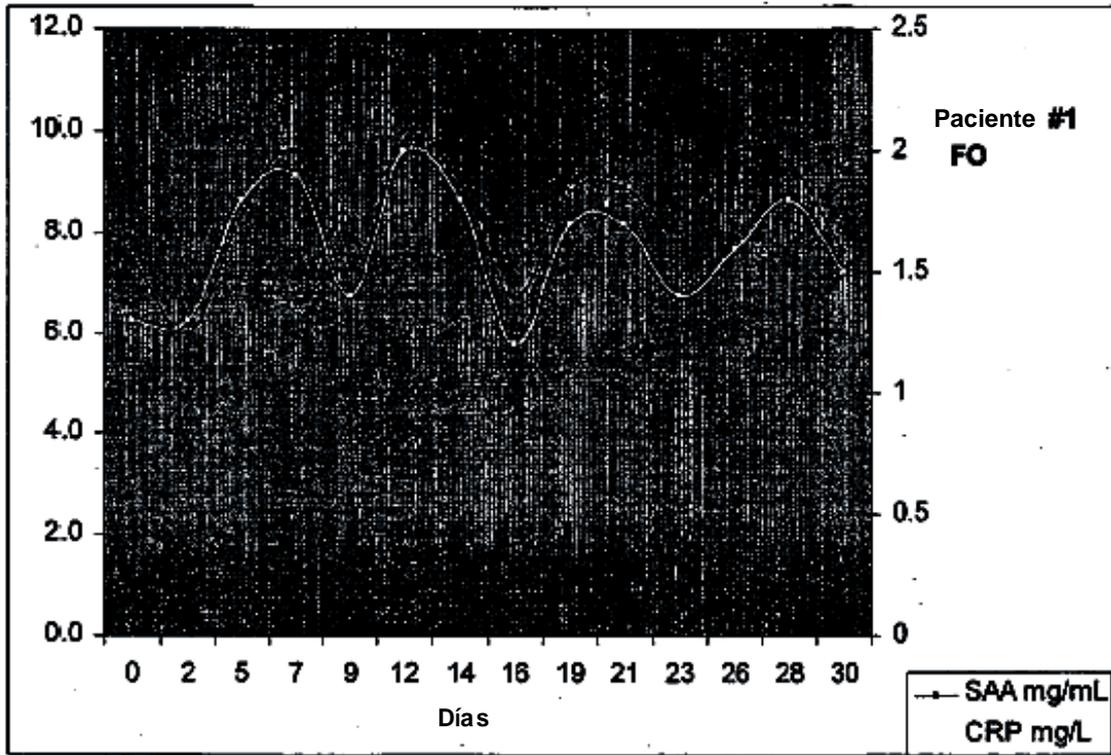


Figura 8

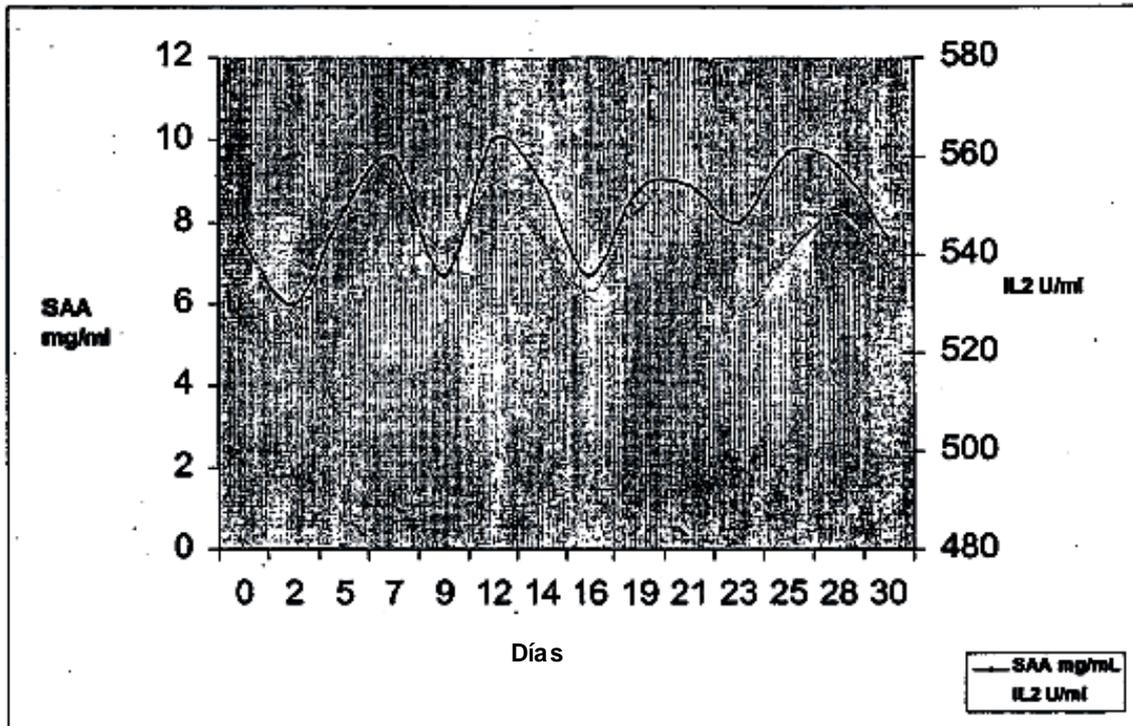


Figura 9

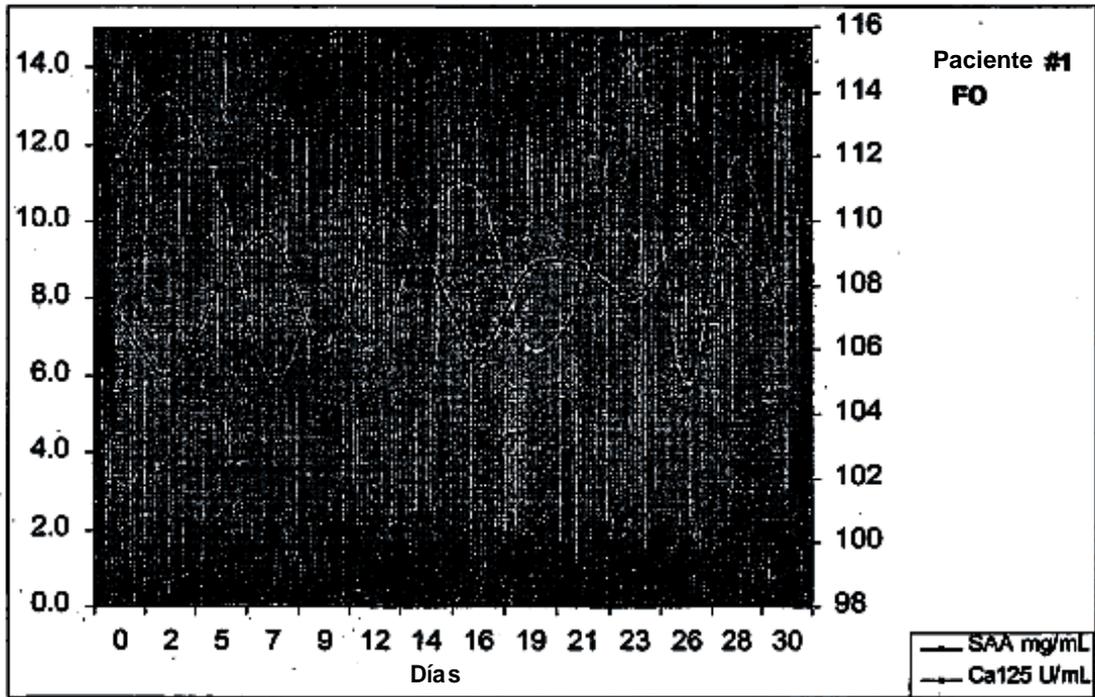


Figura 10

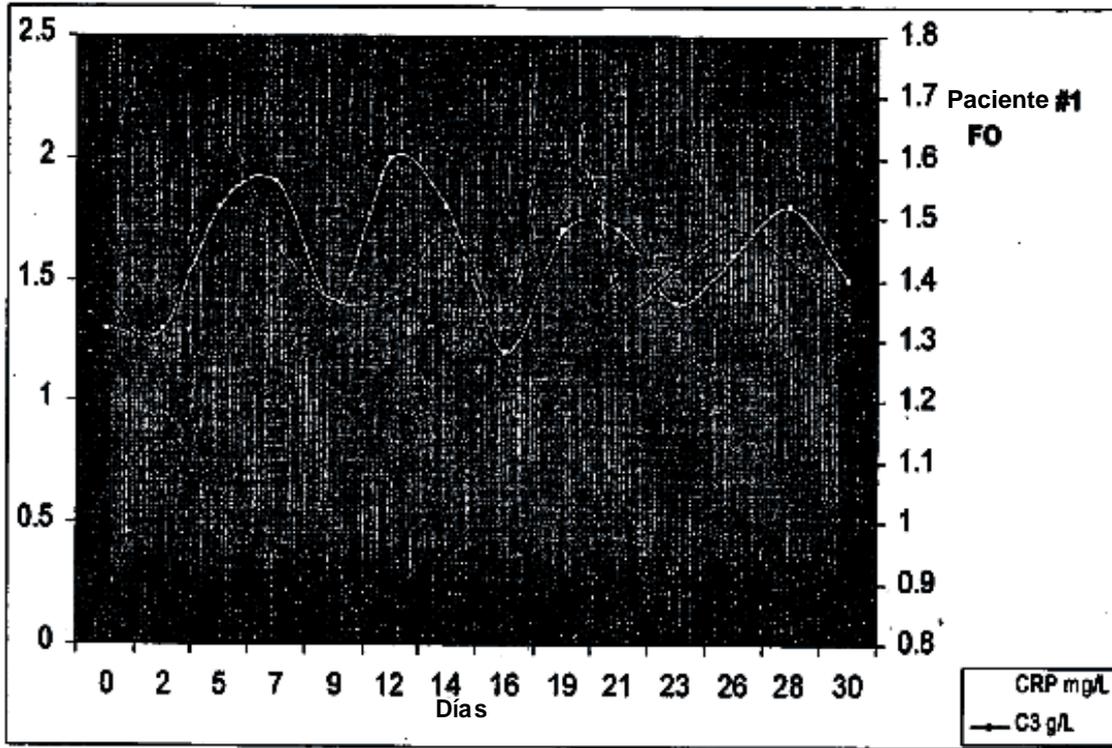


Figura 11

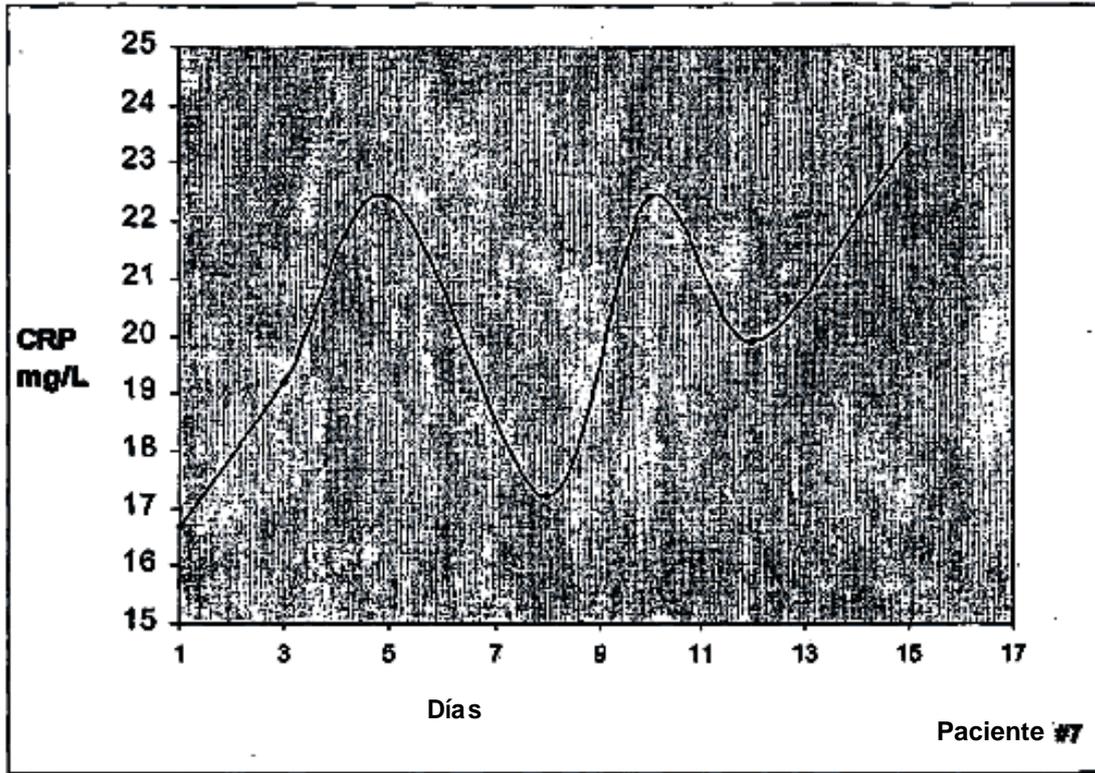


Figura 12