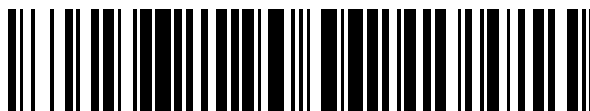


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 933**

51 Int. Cl.:
A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04713422 .6**
96 Fecha de presentación: **20.02.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1601756**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.12.2005**

54 Título: **MÉTODOS PARA LA PRODUCCIÓN DE COMPLEJOS DE MOLÉCULAS ANTÍGENAS DE ALFA (2) MACROGLOBULINA.**

30 Prioridad:
20.02.2003 US 449022 P
27.02.2003 US 450751 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.08.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.08.2012

73 Titular/es:
**UNIVERSITY OF CONNECTICUT HEALTH
CENTER
263 FARMINGTON AVENUE
FARMINGTON, CT 06030, US**

72 Inventor/es:
**SRIVASTAVA, Pramod, K. y
BINDER, Robert, J.**

74 Agente/Representante:
Urizar Anasagasti, José Antonio

ES 2 385 933 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

1. INTRODUCCIÓN

[0001] La presente invención se refiere a un método para preparar una composición que comprende complejos de moléculas antígenas de alfa (2) macroglobulina purificados aislados a partir del suero de un paciente.

5 2. ANTECEDENTES DE LA INVENCION

2.1 ALFA (2) MACROGLOBULINA

10 [0002] La α -macroglobulinas son elementos de una superfamilia de proteínas de proteínas estructuralmente relacionadas que también abarca los componentes C3, C4 y C5 de complemento. La de la proteína alfa (2) macroglobulina (α 2M) del plasma humano es una proteína homotetramérica de 720 kDa principalmente conocida como un inhibidor de la proteasa y una molécula barredora de proteasa de fluido inflamatorio y plasma (para revisión ver Chu y Pizzo, 1994, Lab. Invest. 71:792) . α 2M se sintetiza como un precursor que tiene 1.474 residuos de aminoácidos. Los primeros 23 aminoácidos funcionan como una secuencia de señal que se rompe para producir una proteína madura con 1.451 residuos de aminoácidos (Kan et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 82:2282-2286).

15 [0003] Alfa (2) macroglobulina se une promiscuamente a proteínas y péptidos con cadenas laterales de aminoácidos nucleófilos de una manera covalente (Chu et al., 1994, Ann. NY Acad. Sci. 737:291-307) y los dirige a las células que expresan CD91 (también llamado el receptor α 2M o α 2MR; Chu y Pizzo, 1993, J. Immunol 150:48). La unión de α 2M de CD91 está mediada por la porción carboxi-terminal de α 2M (Holtet et al., 1994, FEBS Lett. 344:242-246) y se han determinado residuos clave (Nielsen et al., 1996, J. Biol. Chem. 271:12909-12912)

20 [0004] Generalmente conocida por inhibir la actividad de la proteasa, α 2M se une a una variedad de proteasas a través de múltiples sitios de unión (véase, por ejemplo, Hall et al., 1981, Biochem. Biophys. Res. Commun. 100 (1) :8-16) . La interacción de proteasa con α 2M resulta en una reordenación estructural compleja llamada transformación, que es el resultado de una escisión dentro de la región "cebo" de α 2M después de que la proteasa queda "atrapada" por tioésteres. El cambio conformacional expone residuos necesarios para la unión al receptor, lo que permite al complejo α 2M-proteasa unirse a la α 2MR. Metilamina puede inducir cambios conformacionales y división similares a la inducida por proteasas. La forma no escindida de α 2M, que no es reconocida por el receptor, se refiere a menudo como la forma "lenta" (s- α 2M). La forma escindida se conoce como la la forma "rápida" (f- α 2M) (revisado por Chu et al., 1994, Ann. NY Acad. Sci. 737:291-307). Recientemente, también se ha demostrado que la α 2MR puede unirse a HSP, como gp96, HSP90, HSP70, y calreticulina (Basu et al., 2001, Immunity 14 (3) :303-13).

30 [0005] Los estudios han demostrado que, además de sus funciones inhibitoras de proteasa, α 2M, cuando complejada con antígenos, pueden mejorar la capacidad de los antígenos de ser captados por células que presentan antígenos, como macrófagos y presentados a hibridomas de células T in vitro en hasta dos órdenes de magnitud (Chu y Pizzo, de 1994, de Lab. Invest. 71:792), e inducir la proliferación de células T (Osada et al., 1987, Biochem. Biophys. Res. Commun.146 :26-31). Otras pruebas sugieren que el antígeno complejante con α 2M aumenta la producción de anticuerpos por las células de bazo crudas in vitro (Osada et al., 1988, Biochem. Biophys. Res. Commun. 150:883), provoca unas respuestas de anticuerpos in vivo en conejos de experimentación (Chu et al., 35 1994, J. Immunol. 152:1538-1545) y ratones (Mitsuda et al., 1993, Biochem. Biophys. Res. Commun. 101:1326-1331). También se han mostrado que complejos péptidos antigénicos de α 2M inducen una respuesta in vivo de célula T citotóxica (Binder et al., 2001, J. Immunol. 166:4698-49720).

2.2. PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO

40 [0006], las proteínas de choque térmico (HSP), también conocidas como proteínas de estrés, se identificaron por primera vez como proteínas sintetizadas por células en respuesta a choque térmico. HSP se han clasificado en cinco familias, en función del peso molecular, Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60 y smHsp. Se encontró después que muchos elementos de estas familias son inducidos en respuesta a otros estímulos estresantes tales como la privación de nutrientes, alteración metabólica, radicales de oxígeno, y la infección por patógenos intracelulares o extracelulares (véase Welch, 1993, Scientific American 56-64; Young, 1990, Annu. Rev. Immunol 8:... 401-420; Craig, 1993, Science 260:1902-1903; Gething et al, 1992, Nature 355:33-45; y Lindquist et al, 1988, Annu Rev. Genética.. 22:631-677)

50 [0007], las proteínas de choque térmico se encuentran entre las proteínas más altamente conservadas en existencia. Por ejemplo, DnaK, la Hsp70 de E. coli tiene alrededor de 50% de identidad de secuencia de aminoácidos con las proteínas Hsp70 de excoiados (Bardwell et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:848-852). Las familias Hsp60 y Hsp90 también muestran igualmente altos niveles de conservación dentro de la familia (Hickey et al, 1989, Mol Cell Biol 9:2615-2626; Jindal, de 1989, Mol Cell Biol 9:2279-2283.). Además, se ha descubierto que las familias Hsp60, Hsp70 y Hsp90 se componen de proteínas que están relacionadas con las proteínas de estrés en secuencia, por ejemplo, que tiene más de 35% de identidad de aminoácidos, pero cuyos niveles de expresión no son alterados por el estrés .

55

[0008] Los estudios sobre la respuesta celular al choque térmico y otros factores de estrés fisiológico revelaron que los HSPs están involucrados no sólo en la protección celular frente a estas condiciones adversas, sino también en procesos bioquímicos e inmunológicos esenciales en las células no estresadas. HSPs realizan diferentes tipos de funciones chaperonas. Por ejemplo, elementos de la familia Hsp70, que se encuentran en el citoplasma, núcleo, mitocondrias, o retículo endoplásmico de la célula (Lindquist et al., 1988, Ann. Rev. Genética 22:631-677), están involucrados en la presentación de antígenos a las células del sistema inmune, y también están involucrados en la transferencia, plegado y montaje de proteínas en las células normales. HSPs son capaces de unir proteínas o péptidos, y liberar proteínas o péptidos unidos en presencia de trifosfato de adenosina (ATP) o pH bajo.

2.3. INMUNOGENICIDAD DE COMPLEJOS HSP-PÉPTIDO

[0009] Srivastava et al. demostraron la respuesta inmune a sarcomas inducidos por metilcolantreno de ratones consanguíneos (1988, Immunol. Hoy 9:78-83). En estos estudios, se encontró que las moléculas responsables de la inmunogenicidad individualmente distinta de estos tumores son glicoproteínas de 96kDa (gp96) y proteínas intracelulares de 84 a 86kDa (Srivastava et al., 1986, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 83:3407-3411; Ullrich et al, 1986, Proc Natl Acad Sci EE.UU. 83:3121-3125). La inmunización de ratones con gp96 o p84/86 aisladas de un tumor particular hizo a los ratones inmunes a ese tumor en particular, pero no a tumores diferentes antigénicamente. El aislamiento y caracterización de genes que codifican gp96 y p84/86 reveló homología significativa entre ellos, y mostró que gp96 y p84/86 fueron, respectivamente, las contrapartes endoplásmico reticular y citosólica de las mismas proteínas de choque térmico (Srivastava et al., 1988, Immunogenética 28:205-207; Srivastava et al, 1991, Curr Top Microbiol Immunol 167:109-123). Además, se mostró que la Hsp70 provocaba inmunidad contra el tumor del que se aisló, pero no a tumores antigénicamente diferentes. Sin embargo, se encontró que la Hsp70 vaciada de péptidos perdía su actividad inmunogénica (Udono y Srivastava, 1993, J. Exp. Med. 178:1391-1396). Estas observaciones sugerían que las proteínas de choque térmico no son inmunogénicas *per se*, sino que forman complejos no covalentes con péptidos antigénicos, y los complejos pueden provocar la inmunidad específica a los péptidos antigénicos (Srivastava, 1993, Adv Cancer Res. 62:153-177; Udono et al, 1994, J. Immunol, 152:5398-5403; Suto et al, 1995, Science, 269:1585-1588).

[0010] Complejos covalentes de HSP y el péptido, purificados de células cancerosas, pueden ser utilizado para el tratamiento y prevención del cáncer y se han descrito en las publicaciones PCT WO 96/10411, de 11 de abril de 1996, y WO 97/10001, de fecha 20 de marzo 1997 (Patente de EE.UU. N ° 5.750.119 concedida 12 de Abril 1998, y de patente de EE.UU. N ° 5837251 concedida en Noviembre 17 de 1998, respectivamente). El aislamiento y purificación complejos péptido-proteína de estrés se ha descrito, por ejemplo, a partir de células infectadas por gérmenes patógenos, y pueden ser utilizados para el tratamiento y prevención de la infección causada por el patógeno, tal como virus y otros patógenos intracelulares o extracelulares, incluyendo bacterias, protozoos, hongos y parásitos (véase, por ejemplo, la publicación PCT WO 95/24923, 21 de Septiembre de 1995). Pueden también prepararse *in vitro* complejos péptido-proteína de estrés Inmunogénica complejando de proteína de estrés y péptidos antigénicos, y los usos de estos complejos para el tratamiento y la prevención de cáncer y enfermedades infecciosas se ha descrito en la publicación PCT WO 97/10000, de fecha 20 de Marzo de 1997 (Patente de EE.UU. N ° 6030618 concedida en Febrero 29, 2000. El uso de purificación complejos péptido-proteína de estrés para sensibilizar a las células presentadoras de antígeno *in vitro* para su uso en inmunoterapia adoptiva se describe en la publicación PCT WO 97/10002, de 20 de Marzo de 1997 (véase también la patente de EE.UU. N ° 5985270 concedida 16 de Noviembre 1999).

2.4. EL RECEPTOR DE ALFA (2) MACROGLOBULINA, O "CD91"

[0011] El receptor de alfa (2) macroglobulina (en adelante denominado indistintamente como "α2MR" o "el receptor α2M"), también conocido como proteína relacionada con el receptor de LDL (lipoproteína de baja densidad) ("PRL") o CD91, se expresa sobre todo en el hígado, el cerebro y la placenta. El receptor α2M es un elemento de la familia del receptor de lipoproteína de baja densidad. El dominio extracelular del receptor humano consta de seis repeticiones de 50-aminoácidos EGF y 31 repeticiones de complemento de aproximadamente 40 a 42 aminoácidos. Las repeticiones de complemento se organizan, desde el amino al carboxi-terminal, en grupos de 2, 8, 10 y 11 repeticiones, denominados Grupo I, II, III y IV (Herz et al., 1988, EMBO J. 7:4119 -4127). Un estudio señala al Grupo II (CI-II), que contiene repeticiones 3-10 de complemento (CR3-10), como la parte principal de unión de ligando del receptor (Horn et al, 1997, J. Biol Chem 272: 13,608 hasta 13,613). El receptor α2M desempeña un papel en la endocitosis de una diversidad de ligandos. Además de α2M, otros ligandos de α2MR incluyen complejos de lipoproteínas, lactoferrina, activador tisular del plasminógeno (tPA), activador del plasminógeno tipo uroquinasa (uPA), y exotoxinas. Otros ejemplos de ligandos de α2MR se puede encontrar en la publicación PCT WO 97/04794 y patente de los EE.UU. no. 6156311. Por lo tanto, el receptor α2M juega un papel en una variedad de procesos celulares, incluyendo la endocitosis, la presentación del antígeno, la regulación del colesterol, el aclaramiento de lipoproteínas que contienen ApoE, y la eliminación de quilomicrones remanentes.

[0012] El α2M humanos se sintetiza como un precursor de 1474 aminoácidos, los primeros 23 de los cuales funcionan como una secuencia de señales que se rompe para producir una proteína madura de 1451 aminoácidos (Kan et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 82:2282-2286). En experimentos con proteína recombinante, se

encontró que los 138 aminoácidos carboxi-terminales de $\alpha 2M$ (representando los aminoácidos 1314-1451 de la proteína madura) se unieron al receptor. Este dominio ha sido llamado RBD (dominio de unión al receptor; Salvesent et al, 1992, FEBS Lett 313:198-202; Holtet et al, 1994, FEBS Lett 344:242-246). Una variante de RBD (RBDv), un fragmento proteolítico de $\alpha 2M$ que comprende unos adicionales 15 residuos amino terminales (representando los aminoácidos 1314-1451 de la proteína madura) se une al receptor, con casi la misma afinidad que la proteasa $\alpha 2M$ - (Holtet et al. 1994, FEBS Lett. 344:242-246).

[0013] La alineación de los ligandos $\alpha 2MR$ identifica un dominio conservado presente en el RBDS de macroglobulinas α . Las secuencias conservadas abarcan los aminoácidos 1366-1392 de $\alpha 2M$ humana. Los residuos conservados dentro de este dominio son Phe1366, Leu1369, Lys1370, Val1373, Lys1374, Glu1377, Val1382, Arg1384 (Nielsen et al., 1996, J. Biol. Chem.. 271:12909-12912). De estos, Lys1370 y Lys1374 demostraron ser fundamentales para la unión al receptor (Nielsen et al, 1996, J. Biol Chem 271:... 12.909-12912).

[0014] La unión de ligandos, incluyendo el enlace a $\alpha 2M$, a $\alpha 2MR$ es inhibida por la proteína asociada a $\alpha 2MR$ (RAP). RAP es una chaperona 39 kDa plegable que reside en el retículo endoplásmico y es necesaria para el proceso normal de $\alpha 2MR$. RAP tiene la capacidad de inhibir competitivamente la unión de todos los $\alpha 2MR$ a todos los $\alpha 2MR$ ligandos probados. Un estudio muestra que RAP se une para complementar repeticiones C5-C7 en el grupo II (CI-II), de $\alpha 2MR$ (Horn et al, 1997, J. Biol Chem 272:13608-13613); otra muestra que RAP se une a todos los complemento a todos los módulos de dos repeticiones de complemento en CI-II, a excepción del módulo C9-C10 (Andersen et al, J. Biol Chem, 24 de Marzo de 2000, PMID: 10747921, publicado electrónicamente antes de impresión). Tres dominios estructurales, 1,2 y 3, se han identificado en RAP, que consisten en residuos aminoácidos 18-112, 113-218 y 219-323, respectivamente. La valoración de la competencia de ligando de dominios RAP recombinantes indica que los factores determinantes para la inhibición de ligandos de ensayo residen en las regiones C-terminal de los dominios 1 y 3 (Ellgaard et al., 1997, Eur. J. Biochem. 244:544-51).

[0015] El uso de CD91 como un receptor de proteína de choque térmico, células que expresan CD91 unido a un HSP, anticuerpos y otras moléculas que se unen un complejo CD91-HSP, ensayos de selección para identificar compuestos que modulan la interacción de un HSP con CD91, métodos para usar composiciones que comprenden CD91, y secuencias de CD91 para el diagnóstico y el tratamiento de trastornos del sistema inmune, trastornos proliferativos, y enfermedades infecciosas también se han descrito en la publicación PCT WO 01/92474, de fecha Diciembre 6,2001. Complejos de alfa (2) macroglobulina asociados a moléculas antigénicas para su uso en inmunoterapia y métodos para usar estas composiciones en el diagnóstico y tratamiento de trastornos proliferativos, y enfermedades infecciosas también se han descrito en la publicación PCT WO 01/91787 de fecha 6 de Diciembre de 2001. Binder et al. demostró que complejos reconstituidos in vitro de alfa (2) macroglobulina y péptidos antigénicos desencadenan respuesta específica de CTL (Binder et al, 2001, J. Immunol. 166:4968-4972).

2.5. PRESENTACIÓN DE ANTÍGENO

[0016] Las moléculas de complejo de gran histocompatibilidad (MHC) presentan antígenos en la superficie celular de células presentadoras de antígeno. Los antígenos son procesados por dos vías diferentes de procesamiento de antígenos, dependiendo de si su origen es intracelular o extracelular. Los antígenos de proteínas intracelulares o endógenos, es decir, los antígenos sintetizados dentro de la célula presentadora de antígeno, son presentados por moléculas MHC de clase I (MHC I) a CD8 + linfocitos T citotóxicos. Por otro lado, determinantes antigénicos extracelulares o sintetizados exógenamente se presentan en la superficie celular de la APCs "especializados" o "profesionales" (macrófagos, por ejemplo) por moléculas MHC de clase II a CD4 + linfocitos T (véase, en general, Fundamental Immunology, W.E. Paul (ed.), Nueva York: Raven Press, 1984). Esta segregación compartimental de rutas de procesamiento de antígeno es importante para evitar destrucción de tejidos que de otra forma podría ocurrir durante una respuesta inmune como resultado de derramamiento de antígenos de MHC y de celda vecina.

[0017] Las proteínas de choque térmico acompañan una gran variedad de péptidos, dependiendo de la fuente de la que se aísla el HSP (para revisión, ver Srivastava et al, 1998, Immunity 8: 657-665). HSP derivado de tumor lleva péptidos antigénicos tumorales (Ishii et al, 1999, J. Immunology 162:1303-1309.); gp96 preparados a partir de células infectadas por el virus lleva epítomos virales (Suto y Srivastava, 1995, Ciencia 269:1585-1588 ; Nieland et al, 1996, Proc Natl Acad Sci EE.UU. 95:1800-1805), y preparados de gp96 a partir de células transfectadas con antígenos modelo, tales como la ovoalbúmina o β -galactosidasa se asocian con los epítomos correspondientes (Arnold et al ., 1995, J. Exp Med.182 :885-889;. Breloer et al, 1998, Eur. J. Immunol 28:1016-1021). La asociación de gp96 con péptidos ocurre in vivo (Menoret y Srivastava, 1999, Biochem. Biophys. Research Commun. 262:813-818). Complejos HSP-péptido, ya sea aislados de células (Tamura et al., 1997, Ciencia 278:117-120), o reconstituidos in vitro (Blachere et al., 1997, J. Exp. Med. 186:1183-1406) se excelentes inmunógenos y se han utilizado ampliamente para obtener respuestas CD8 + células T específicas para los HSP- péptidos antigénicos acompañantes.

2.5. PRESENTACIÓN DE ANTÍGENO

[0018] La capacidad de los complejos HSP-péptidos para provocar una respuesta inmune depende de la transferencia de los péptidos a las moléculas MHC de clase I y de células presentadoras de antígeno (véase, por

ejemplo: Suto y Srivastava, 1995, supra). Antígenos sintetizados de forma endógena acompañados por gp96 en el retículo endoplásmico [ER] pueden preparar células CD8 + T antígeno-específicas (o CTLs MHC I-restringidas) in vivo; este cebado de linfocitos CD8 + T requiere macrófagos. Sin embargo, el proceso por el cual complejos gp96-peptido exógenamente introducidos provocan la respuesta de células CD8 + T específicas de antígeno no se conoce por completo ya que no hay vía establecida para el traslado de los antígenos extracelulares en la maquinaria de presentación de clase I. Sin embargo, péptidos antigénicos de origen extracelular asociada con HSPs son de alguna manera rescatados por macrófagos, canalizados hacia la vía endógena, y presentados por moléculas MHC y para ser reconocidos por CD8 + (linfocitos (Suto y Srivastava, 1995, supra; Blachere et al, 1997, J. Exp. Med. 186:1315-22).

10 2.6. INTERACCIONES HSP-CD91

[0019] Los estudios reportados por Basu et al. indican que las proteínas de choque térmico gp96, HSP90, HSP70, y calreticulina son ligandos adicionales para el CD91 (Basu et al., 2001, supra). Gp96 se acopla a una región de CD91, que se encuentra en un fragmento amino terminal denominado el fragmento p80 (Binder et al, 2000, Nature Immunology, 1:151-155; WO 01/92474). El gen humano que codifica gp96 ha sido mapeado previamente por nosotros en el cromosoma 12 (q24.2 q24.3) (Maki et al., 1993, Somatic Cell Mol. Gen. 19:73-81). Es interesante a este respecto que el gen CD91 se ha mapeado en el mismo cromosoma y en un lugar no muy lejano (q13 q14) (Hilliker et al. Genomics 13:472-474). Gp96 se une directamente a CD91 y no a través de otros ligandos como $\alpha 2M$. Preparaciones homogénea de gp96, en solución, o reticuladas a una matriz sólida, se unen con el CD91. De hecho, el ligando importante para el CD91, $\alpha 2M$, en realidad inhibe la interacción de gp96 con CD91, en lugar de promoverla, proporcionando evidencia de que gp96 es un ligando directo para CD91. La proteína de 80 kDa, p80, que se ha mostrado que liga a gp96 es claramente un producto de degradación amino-terminal de la subunidad α del CD91 al (Binder et al, 2000, Nature immunology, 1:151-155). Productos de degradación del CD91 en esta gama de tamaño se han observado también en estudios previos (Jensen et al., 1989, Biochem Arch. 5:171-176), y pueden indicar la existencia de un ectodominio discreto en el CD91 que puede ser particularmente sensible a escisión proteolítica.

25 2.6. INTERACCIONES HSP-CD91

[0020] Las observaciones de Basu et al. de que $\alpha 2$ macroglobulina y anticuerpos anti-CD91 inhiben la representación por cada uno de los cuatro HSPs por completo, indican que el CD91 es el único receptor para los 4 HSPs (Basu et al., 2001, supra). Teniendo en cuenta el papel cada vez más evidente que el HSP juega en la respuesta inmune innata (Basu et al., 2000, int. Immunol. 12 (11) :1539-1546) y adaptativa, esta observación es algo contraria a la intuición. Sin embargo, los datos sobre la inhibición completa por dos medios independientes son muy convincentes (PCT publicación WO 01/92474, de fecha 06 de Diciembre 2001). Binder informó de diferencias significativas entre Hsp70 y hsp90/gp96 en su capacidad para competir por la unión a receptores gp96 (Binder et al., 2000, J. Immunol. 165:2582-2587). Otro grupo también ha observado diferencias similares entre gp96 y HSP70 (Arnold-Schild et al., 1999, 162:3757-3760). Estas diferencias no son incompatibles con el informe de Basu apuntando a un receptor único de los 4 HSPs. Simplemente sugieren que los varios HSP interactúan con un único receptor con muy diferentes afinidades.

[0021] Como se muestra en Binder et al., la interacción proteína de choque térmico-CD91 proporciona un nuevo tipo de función para CD91, o un fragmento del mismo, en función de un sensor, no sólo del medio extracelular con sus ligandos basados en plasma anteriormente conocidos, sino también un sensor del medio intracelular también. HSPs como gp96 son moléculas intracelulares obligadas y se liberan en el medio extracelular sólo en situaciones de muerte celular necrótica (pero no apoptosis) (PCT publicación WO 01/92474, de fecha 6 de Diciembre 2001). Así, el CD91 puede actuar como un sensor para la muerte celular necrótica, así como el receptor de barrido CD36 y la recientemente identificada proteína de unión a fosfatidil serina actúan como sensores de muerte celular por apoptosis y receptores de células apoptóticas (Savill et al., 1992, J. Clin Invest. 90 :1513-1522; Fadok et al, 2000, Nature 405:85-90). La interacción de los macrófagos con las células apoptóticas conduce a una baja regulación de las citoquinas inflamatorias como el TNF (Fadok et al., 2000, supra), mientras que la interacción gp96-APC lleva a re-presentación de gp96- péptidos acompañantes por moléculas MHC y de APC, seguida por la estimulación de células T antígeno-específicas (Suto y Srivastava, 1995, supra) y, además, secreción de citoquinas pro-inflamatorias como TNF, GM-CSF e IL-12. Curiosamente, $\alpha 2M$, un ligando independiente para el CD91, inhibe la representación de los gp96- péptidos acompañantes por macrófagos. Esta observación de Binder sugiere que la representación de péptidos gp96- péptidos acompañantes no puede ocurrir fisiológicamente en la sangre, sino sólo dentro de los tejidos como consecuencia de muerte celular necrótica localizada. Esto es coherente con la ausencia total de gp96 u otros HSP en la sangre en todas las situaciones ensayadas. En conjunto, las observaciones de Binder apuntan a un posible mecanismo por el cual la liberación de HSPs en la sangre como resultado de lesiones graves y lisis en los tejidos no dará lugar a una cascada sistémica y letal de citoquinas pro-inflamatorias.

[0022] Es posible, por tanto, que CD91 haga posible para los APCs muestrear (i) el medio intracelular de la sangre por medio de $\alpha 2M$ y otros ligandos de plasma y (ii) el medio intracelular de los tejidos a través de HSPs, en particular de la familia gp96. Aquél permite que APC ponga en práctica su función fagocítica primordial, mientras que el último

les permite ejecutar sus funciones inmunológicas innata y adaptativa. Visto desde otra perspectiva, el reconocimiento de células apoptóticas por APC a través de CD36 o serina fosfatidilo, conduce a señales antiinflamatorias, mientras que la interacción de la APC con células necróticas a través de CD91 conduce a respuestas inmunes pro-inflamatorias innata y adaptativa (véase Srivastava et al., 1998 , Inmunidad 8: 657 a 665).

5 3. RESUMEN DE LA INVENCION

10 [0023] La presente invención se refiere a un método para la preparación de una composición que comprende complejos purificados de molécula antigénica de alfa (2)-macroglobulina que comprende (a) purificar complejos de molécula antigénica de alfa (2)-macroglobulina a partir de suero de un paciente que tiene una lesión precancerosa, un tumor canceroso o una enfermedad infecciosa, en donde dichos complejos se encuentran en y se derivan de dicho suero, y en donde dichos complejos comprenden una molécula antigénica que tiene la antigenicidad de dicha lesión precancerosa, dicho tumor canceroso, o dichas enfermedades infecciosas, respectivamente, y (b) formular los complejos de molécula antigénica de alfa (2)-macroglobulina en un portador farmacéuticamente compatible.

15 [0024] En el campo de la terapia del cáncer, este descubrimiento permite la preparación de inmunoterapia individualizada de alta especificidad que se dirige a los antígenos específicos expresados en el tumor de cada paciente individual, sin tener que calificar primero o identificar dichos antígenos. Tal inmunoterapia autóloga usando complejos de alfa (2) macroglobulina se muestra en este documento que es altamente eficaz en el tratamiento y la prevención del cáncer. Por otra parte, estos resultados pueden extenderse a aplicaciones de tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas.

20 [0025] Los solicitantes descubrieron que las hembras de ratones C57BL / 6 inmunizados con complejos de alfa (2) macroglobulina purificada a partir de ratones machos constriyen respuestas anti-hombre (Binder et al., 2002, Cancer Immunity, vol. 2:16). Complejos de antígeno de alfa (2) macroglobulina-macho fueron obtenidos y utilizados para el cebado de respuestas inmunes. Binder et al. demostraron que el antígeno Y que se expresa en ratones macho, se puede aislar en forma de complejo con alfa (2) macroglobulina de los sueros de los ratones machos normales. Binder et al. entonces aplicaron este concepto básico a la inmunidad del cáncer y demostraron que la inmunidad provocada por complejos péptido-alfa (2) macroglobulina reconstituidos in vitro eran eficaces en la profilaxis contra los tumores (Binder et al., 2002, supra).

25 [0026] La mayoría de los tumores no producen alfa (2) macroglobulina, e incluso los que no producen alfa (2) macroglobulina, como los tumores de origen hepatocito, producen alfa (2) macroglobulina intracelularmente. La presente invención, basada en parte en el descubrimiento de los solicitantes de que tumores o células portadoras de patógenos derraman antígenos en los fluidos corporales, por ejemplo, sangre, donde pueden formar complejos con alfa (2) macroglobulina.

30 [0027] La presente descripción revela un método para tratar o prevenir el cáncer o enfermedad infecciosa en un paciente, dicho método comprendiendo administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento o prevención de una cantidad de un complejo de alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica eficaz para tratar o prevenir cáncer o enfermedad infecciosa en un paciente, en donde el complejo fue aislado de un fluido corporal de un mamífero que tiene cáncer o una enfermedad infecciosa.

35 [0028] La descripción revela además un método para tratar o prevenir el cáncer o enfermedad infecciosa en un paciente que comprende las etapas de: a) aislamiento de un complejo de alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica de un fluido corporal de un mamífero que tiene dicho cáncer o enfermedad infecciosa, y b) la administración de una cantidad efectiva de dicho complejo aislado para tratar o prevenir dicho cáncer o enfermedad infecciosa en dicho paciente. En una realización concreta, el complejo es una población de complejos de alfa (2) macroglobulina unida a diferentes moléculas antigénicas en el que las moléculas antigénicas diferentes componen una que tiene la antigenicidad de un antígeno específico a dicho cáncer o enfermedad infecciosa. En otra realización particular, el método es para tratar cáncer y el paciente tiene cáncer, y la molécula antigénica se deriva de un tumor. En otra realización particular de la revelación, el método es para tratar cáncer y el paciente tiene cáncer, y la eficacia de dicho tratamiento para el cáncer es evaluada por una disminución en el tamaño del tumor o una disminución en el número de tumores en el paciente. En otra realización particular, el método es para prevenir el cáncer y el paciente está en la necesidad de la prevención de tal prevención, y dicha molécula antigénica despliega un antígeno que tiene la antigenicidad de un antígeno específico a dicho cáncer. En otra realización particular, el método es para la prevención de una enfermedad infecciosa y el paciente está en la necesidad de la prevención de tal prevención, y dicha molécula antigénica despliega un antígeno que tiene la antigenicidad de un antígeno específico a un patógeno asociado con dicha enfermedad infecciosa. En otra realización, el método es para tratar el cáncer y el paciente tiene cáncer y el método comprende además, antes o al mismo tiempo que la etapa (b), la etapa de la administración de un agente de quimioterapia a dicho paciente. En otra realización particular, el método para tratar el cáncer y el paciente tiene cáncer, y el método comprende además, antes o al mismo tiempo que la etapa (a), la etapa de inducir necrosis tumoral en dicho mamífero. En otra realización particular, la etapa de inducir necrosis tumoral comprende administrar a dicho mamífero un agente de necrosis tumoral.

5 [0029] En otra realización, la especificación describe un método para estimular una respuesta inmune contra el cáncer o una enfermedad infecciosa en un paciente que comprende: a) aislar complejos de alfa (2) macroglobulina de un fluido corporal de un mamífero, y b) administrar los complejos aislados de alfa (2) macroglobulina al paciente de tal manera que se estimula una respuesta inmune. En una realización particular, el paciente es un paciente humano. En otra realización particular, los complejos de alfa (2) macroglobulina son una población de complejos de alfa (2) macroglobulina unida a diferentes moléculas antigénicas en la que las moléculas antigénicas diferentes comprenden una que tiene la antigenicidad de un antígeno específico para dicho cáncer o enfermedad infecciosa . En otra realización particular, el método es para estimular una respuesta inmune contra el cáncer en un paciente que tiene cáncer, y el método comprende además, antes o al mismo tiempo que la etapa (a), la etapa de inducción de la necrosis del tumor en dicho mamífero . En otra realización particular, la etapa de inducir necrosis tumoral comprende administrar a dicho mamífero un agente de necrosis tumoral.

10 [0030] Además se divulga aquí un método para prevenir el cáncer en un mamífero, dicho método comprendiendo administrar una cantidad eficaz de un complejo de alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica, dicho complejo aislado de un fluido corporal de dicho mamífero, dicho mamífero teniendo una lesión precancerosa o un pólipo. En una realización concreta del método, el mamífero es un humano.

15 [0031] La presente descripción se describe un método para prevenir el cáncer en un primer mamífero, que comprende administrar una cantidad eficaz de un complejo de alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica, dicho complejo aislado de un fluido corporal de un segundo mamífero, dicho segundo mamífero teniendo una lesión precancerosa o un pólipo. En una realización concreta, el complejo cuenta con una pluralidad de complejos que comprenden alfa (2) macroglobulina unida a una o más moléculas antigénicas diferentes en las que las moléculas antigénicas diferentes abarcan por lo menos una que tiene la antigenicidad de un antígeno específico para dicha cáncer o enfermedad infecciosa . En otra realización particular, el complejo es autólogo al paciente dicho. En otra realización particular, dicho complejo se purifica antes de la administración. En otra realización concreta, dicho fluido corporal es fluido vascular. En otra realización particular, el fluido vascular es suero derivado de sangre. En otra realización particular, el fluido corporal es ascitis extravascular o fluido cefalorraquídeo.

20 [0032] En otra realización de la invención, se provee una composición farmacéutica que abarca (a) una pluralidad de complejos de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina aislada de un fluido corporal de un mamífero que tiene cáncer o una enfermedad infecciosa, la pluralidad dicha comprendiendo por lo menos un complejo que comprende una alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica que muestra un antígeno que tiene la antigenicidad de un antígeno específico a un tumor o un agente infeccioso, y (b) una cantidad efectiva de un portador farmacéutico. En una realización particular, el fluido corporal es suero de fluido vascular. En otra realización particular, el fluido es suero vascular derivado de sangre. En otra realización particular, el fluido corporal es ascitis extravascular o fluido cefalorraquídeo.

25 [0033] La presente descripción describe también una vacuna que comprende: (a) una pluralidad de complejos de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina aislada de un fluido corporal de un mamífero que tiene una lesión precancerosa o un pólipo, dicha pluralidad comprendiendo por lo menos un complejo que comprende una alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica que muestra un antígeno que tiene la antigenicidad de un antígeno específico a un tumor, y (b) una cantidad efectiva de un portador farmacéutico. En una realización específica, la pluralidad de complejos de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina es purificada.

30 [0034] También se divulga en la presente descripción una composición farmacéutica que comprende: (a) un complejo que incluye un alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica que tiene la antigenicidad de un tumor o enfermedad infecciosa; (b) un agente seleccionado del grupo que consiste en: un complejo de HSP-péptido, un agente anti-neoplásico, un anticuerpo, una citoquina, un antiviral, un anti-hongo, un antibiótico y un agente quimioterapéutico, y (c) una cantidad efectiva de un portador farmacéutico. En una realización particular, el agente es un agente quimioterapéutico. En otra realización específica, el complejo de molécula antigénica de alfa (2) macroglobulina es purificado.

35 [0035] Se divulga aquí un método para aumentar la presencia de un complejo que comprende alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica en un fluido corporal de un mamífero, dicho método comprendiendo la inducción de necrosis tumoral en dicho mamífero. En una realización particular, la etapa de inducir necrosis tumoral comprende administrar a dicho mamífero un agente de necrosis tumoral.

40 [0036] Además es divulgado aquí es un kit que comprende en uno o más recipientes cantidades terapéutica o profilácticamente eficaces de complejos de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina covalente o no covalente en forma farmacéuticamente aceptable.

45 [0037] La presente descripción describe un método para aumentar la presencia de un complejo que comprende alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica en un fluido corporal de un mamífero, que comprende la inducción de necrosis tumoral en dicho mamífero.

[0038] En otra realización, la invención proporciona un método para la preparación de un complejo que incluye una alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica que tiene la antigenicidad de una lesión precancerosa, un tumor o una enfermedad infecciosa que comprende: a) retirar suero de un paciente que tiene una lesión precancerosa, tumor o enfermedad infecciosa, y b) recuperar un complejo de molécula antigénica de alfa (2) macroglobulina de dicho suero.

[0039] En una realización específica del método, la etapa de la recuperación de un complejo de molécula antigénica de alfa (2) macroglobulina de dicho suero comprende: a) poner en contacto una fase sólida que contiene un molécula de unión de alfa (2) macroglobulina con el suero por un período de tiempo suficiente para permitir la unión del complejo de molécula antigénica de alfa (2) macroglobulina con la fase sólida, b) la eliminación de materiales no unidos a la fase sólida, y c) liberar el complejo de molécula antigénica de alfa (2) macroglobulina de la fase sólida. En una realización específica, la molécula de unión a alfa (2) macroglobulina es un anticuerpo específico para alfa (2) macroglobulina. En otra realización particular, la molécula de unión a alfa (2) macroglobulina es un fragmento de CD91 de unión a ligando.

[0040] La invención proporciona además un método para la preparación de un complejo que incluye un alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica que tiene la antigenicidad de una lesión precancerosa, un tumor o una enfermedad infecciosa que comprende: a) retirar el suero de un paciente que tiene una lesión precancerosa, tumor o enfermedad infecciosa, y b) fraccionar el suero para enriquecer un complejo de molécula antigénica de alfa (2) macroglobulina. En una realización específica, la etapa de poner en contacto el suero con un agente que estimula la formación de enlaces covalentes entre alfa (2) macroglobulina y la molécula antigénica. En otra realización particular, el agente es una proteasa, amoníaco, metiamine o etilamina.

[0041] En varias realizaciones, el fluido corporal de los métodos de la invención es un fluido vascular. En otras realizaciones, el líquido es suero vascular derivado de sangre. Aún en otras realizaciones, el fluido corporal es ascitis extravascular o fluido cefalorraquídeo.

[0042] Como aquí se refiere, "alfa (2) macroglobulina" se refiere a un polipéptido alfa (2) macroglobulina, así como fragmentos de unión de péptidos, derivados, miméticos y análogos de los mismos.

[0043] Los términos "complejo que incluye alfa (2) macroglobulina y una molécula antigénica" o "un complejo de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina", usados indistintamente en este documento, se refieren a una proteína o polipéptido de alfa (2) macroglobulina, o fragmento de unión a péptido de los mismos, asociadas a una molécula antigénica. La asociación puede ser un enlace covalente o no covalente entre la proteína o polipéptido de alfa (2) macroglobulina y la molécula antigénica.

[0044] Tal como se utiliza aquí, el término "fluido corporal" significa cualquier fluido del cuerpo que puede ser utilizado para la preparación de los complejos de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina. Los fluidos corporales incluyen fluidos vasculares y extravasculares. Fluidos extravasculares incluyen, pero no se limitan a, fluido ascitis, cerebral, fluido linfático del tejido, calostro, y semen. En una realización preferida, el líquido del cuerpo es la sangre. En una realización preferida específico, el fluido corporal es suero aislado de sangre.

4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LA FIGURA

[0045] Figura 1 La figura muestra gráficos que representan el crecimiento del tamaño de los tumores (mm^3) durante un período de 18 días en grupos de ratones inmunizados con complejos macroglobulina alfa (2). Los ratones no tratados fueron inmunizados para determinar si los complejos proporcionan un efecto profiláctico. A, ratones inmunizados con PBS como control negativo, llamados PBS1; B, ratones inmunizados con células tumorales irradiadas Meth A; CF, 3 grupos de ratones (con etiqueta "ascitis 1-3") (5 ratones por grupo) inmunizados con complejos de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina a partir de suero de ratones portadores de tumores intradérmicos Meth A, G-I, 3 grupos de ratones (con etiqueta "BLEACH 1-3") (5 ratones por grupo) inmunizados con complejos de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina a partir de suero de ratones con tumor donde los tumores fueron tratados con lejía; J, ratones inmunizados con complejo de molécula antigénica - alfa (2) macroglobulina a partir de suero de ratones no portadores de tumor; K, ratones inmunizados con gp96 derivados de MetaA; L, ratones inmunizados con $\alpha 2\text{M}$ complejados a MethA10 (péptidos $< 10\text{kDa}$ derivados de lisado tumoral MethA); M, ratones inmunizados con enfermedad gp96 derivado de hígado; N, ratones inmunizados con gp96 complejado a MethA10, llamados gp 96-MethA10; y O, ratones inmunizados con PBS, llamados PBS2.

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0046] La presente invención se refiere a un método para la preparación de una composición que comprende complejos purificados alfa (2)-molécula antigénica que comprende (a) purificar alfa (2) complejos alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica a partir de suero de un paciente que tiene una lesión precancerosa, un tumor canceroso, o una enfermedad infecciosa, en donde dichos complejos se encuentran en y se derivan de dicho suero, y en donde dichos complejos comprenden una molécula antigénica que tiene la antigenicidad de dicha lesión

precancerosa, dicho tumor canceroso, o dicha enfermedad infecciosa, respectivamente, y (b) formular los complejos purificados alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica en un portador farmacéuticamente compatible.

5.1. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS DE LA INVENCIÓN

5 [0047] La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que contienen complejos de alfa (2) macroglobulina aislada de suero de un mamífero, que pueden ser utilizados para tratar y / o prevenir un cáncer o enfermedad infecciosa. Dichas composiciones pueden, opcionalmente, también comprender agentes utilizados para el tratamiento terapéutico del cáncer y las enfermedades infecciosas, tales como, pero no limitados a, un complejo HSP- péptido, un agente anti-neoplásico, un anticuerpo, una citoquina, un antiviral, un anti -hongo, un antibiótico o un agente quimioterapéutico. Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden incluir los agentes descritos en la Sección 5.4 para dirigirse al cáncer, la sección 5.5 para dirigirse a las enfermedades infecciosas y la Sección 5.3.3 para dirigirse al cáncer y a las enfermedades infecciosas con las terapias de combinación. Las composiciones farmacéuticas de la invención también se incluyen portadores farmacéuticos, como los descritos en la sección 5.9. Las composiciones farmacéuticas de la invención son especialmente eficaces en los tratamientos autólogos. Dichas composiciones farmacéuticas también pueden incluir adyuvantes, y / o agentes que inducen o aumentan la producción de moléculas antigénicas. En ciertas realizaciones, el agente causa necrosis tumoral. Métodos para la producción de tales composiciones farmacéuticas se describen aquí. Métodos para aumentar la presencia de moléculas antigénicas y/o complejos alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica en el suero antes de o juntamente con aislamiento de tales complejos se describen aquí también.

20 [0048] Las composiciones farmacéuticas y métodos de la invención comprenden complejos de alfa (2) macroglobulina con una población de péptidos antigénicos. Las composiciones farmacéuticas parecen inducir una reacción inflamatoria en el lugar del tumor y pueden en última instancia causar una regresión de la carga tumoral en los pacientes con cáncer tratados. Las composiciones preparadas por los métodos de la invención pueden mejorar la inmunocompetencia del sujeto y provocar inmunidad específica contra agentes infecciosos o inmunidad específica contra células preneoplásicas y neoplásicas. Estas composiciones tienen la capacidad de prevenir la aparición y progresión de las enfermedades infecciosas, y de inhibir el crecimiento y la progresión de las células tumorales.

30 [0049] En realizaciones específicas de la presente invención, un complejo $\alpha 2M$ se administra a un sujeto que recibe otra modalidad de tratamiento de cáncer o enfermedad infecciosa en donde el sujeto puede no responder o ser refractarios a tratamiento con solamente la modalidad de tratamiento, p. ej., al menos alguna porción significativa de células cancerosas o patógenos no mueren o su división celular no es parada. La determinación de la eficacia de una modalidad de tratamiento puede ser ensayada in vivo o in vitro usando métodos conocidos en la técnica. Significados de refractario aceptados en la técnica son bien conocidos en el contexto del cáncer. En una realización, un cáncer o enfermedad infecciosa es refractario o no responde donde respectivamente, el número de células cancerosas no se ha reducido significativamente, o ha aumentado. Entre estos sujetos en tratamiento están aquellos que reciben quimioterapia o terapia de radiación.

35 [0050] En ciertas realizaciones las composiciones de la invención comprenden alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica que se purifican. En tales realizaciones, los alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica están por lo menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% purificados.

5.2. PREPARACIÓN DE COMPLEJOS DE ALFA (2) MACROGLOBULINA

40 [0051] En general, los complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica de la invención pueden ser recuperados y purificados a partir de sueros de mamíferos por métodos conocidos, incluyendo precipitación de sulfato de amonio, extracción de ácido, cromatografía de intercambio aniónico o catiónico, cromatografía fosfocelulosa, cromatografía de inunoafinidad , cromatografía de hidroxapatita, y cromatografía de lectina.

45 [0052] En una realización, los complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica se purifican a partir de suero mediante técnicas de purificación de afinidad. Métodos para el fraccionamiento cromatográfico de proteínas, como la cromatografía de afinidad, son bien conocidos en la técnica. En pocas palabras, la cromatografía de afinidad utiliza un elemento ligante inmovilizado para capturar específicamente la proteína en la reacción de unión. La molécula socia ligante del ensayo de captura de afinidad puede comprender, por ejemplo, un anticuerpo a la alfa (2) macroglobulina, u otro ligando, tal como un dominio ligante CD91 que se une específicamente a alfa (2) macroglobulina. Alternativamente, un ensayo de unión de filtro utiliza un dispositivo, como una superficie en fase sólida como un filtro o una columna, para retener no específicamente las proteínas o complejos de proteínas en base a alguna diferencia física o química entre los complejos y los reactivos no ligados. Cromatografía de afinidad y / o técnicas de separación de unión de filtro pueden ser utilizadas para aislar complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica a partir de suero u otro líquido corporal como se describe en este documento.

55 [0053] En una realización concreta de la invención, complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica están aislados del suero de la siguiente manera: el suero se pone en contacto con una fase sólida, como una columna de agarosa, que contiene un socio ligante de alfa (2) macroglobulina, es decir, una molécula que liga alfa (2) macroglobulina. El suero se incuba en la fase sólida durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión

del complejo alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica con la fase sólida. El material que no se une se retira entonces de la fase sólida, y el complejo alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica ligado es eluido de la fase sólida.

5 [0054] El socio ligante de alfa (2) macroglobulina puede ser cualquier molécula que se une específicamente a la alfa (2) macroglobulina. En una realización preferida, la molécula que liga alfa (2) macroglobulina es un anticuerpo específico para alfa (2) macroglobulina. El anticuerpo específico para alfa (2) macroglobulina es preferiblemente un anticuerpo monoclonal. En otra realización preferida, el alfa (2) macroglobulina molécula de unión es un fragmento de CD91de unión a ligado.

10 [0055] La fase sólida puede ser cualquier superficie o matriz, por ejemplo, pero no limitado a, el policarbonato, poliestireno, polipropileno, polietileno, vidrio, nitrocelulosa, dextrano, nylon, poliacrilamida y agarosa. La configuración de soporte puede incluir gránulos, membranas, micropartículas, la superficie interior de una cuba de reacción, tal como una placa de microtítulo, u otros recipientes de reacción.

15 [0056] En una realización preferida, los complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica están aislados de suero de ratones por dilución 1:1 de suero con 0,15 M NaCl 0,04 M Tris pH 7.6. La mezcla se aplica entonces a una columna Sephacryl S 300R (Sigma), equilibrada y eluida con el mismo tampón. Una columna de 65 ml se utiliza para unos 10 ml de suero. Las fracciones positivas para alfa (2) macroglobulina se determinan por dot blot y el tampón se cambia a un tampón de 0.01 M de fosfato de sodio a pH 7,5 mediante el uso de una columna PD-10. En un método alternativo, el buffer 0.01 M de fosfato de sodio a pH 7,5 se puede utilizar como tampón en la columna de 65 ml para eliminar la etapa de intercambio del tampón. Las fracciones que contienen complejo se aplican a una columna de sefrosa Concanavalina A. Los complejos unidos se eluyen con 0,2 M piranosido metilmanosa, o 5% piranosido metilmanosa, y se aplican a una columna PD-10 para cambiar el buffer a buffer de acetato de sodio 0,05 M pH 6,0, y se aplican a una columna DEAE equilibrada con tampón de acetato de sodio 0,01 M pH 6.0. La alfa (2) macroglobulina se eluye en forma pura, con 0,13 M de tampón acetato de sodio, y se analiza por SDS-PAGE e immunoblotting.

25 [0057] Las realizaciones descritas anteriormente pueden ser usadas para recuperar y purificar complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica partir del suero de las células de mamíferos, tales como sangre que contiene un complejo alfa (2)-macroglobulina - molécula antigénica de la invención. Los métodos pueden ser adaptados para llevar a cabo purificación a media y gran escala de un complejo alfa (2)-macroglobulina - molécula antigénica. Los métodos que no requieren reducción del pH o condiciones de desnaturalización son los más preferidos para la purificación de complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica. Los métodos se pueden utilizar para aislar complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica de células eucariotas, por ejemplo, células cancerosas, tejidos, células aisladas, o líneas celulares eucariotas inmortalizadas infectadas por un patógeno intracelular o extracelular, o células obtenidas de un sujeto infectado con un patógeno.

30 [0058] En la aplicación de los métodos para el aislamiento y la purificación descritos anteriormente, un experto en la materia será consciente de que el uso de agentes y condiciones que son demasiado estrictas, puede disociar los complejos.

35 [0059] En otra realización, los complejos de polipéptidos α 2M y moléculas antigénicas aisladas del suero se tratan para complejar de forma covalente polipéptidos α 2M con péptidos antigénicos antes de su administración a los pacientes. Procedimientos para la formación de tales complejos covalentes α 2M - molécula antigénica se describen en detalle en este documento.

40 [0060] En general, cuando un α 2M se mezcla con la proteasa, tiene lugar división de la región "cebo", la proteinasa queda "atrapada" por tioésteres, y se lleva a cabo un cambio conformacional que permite la unión del complejo α 2M a la CD91. Durante la activación proteolítica de α 2M, los ligandos no proteolíticos pueden llegar a estar unidos de forma covalente a los tioésteres activados. Los ligandos no proteolíticos también pueden ser incorporados en la molécula activa por amoniaco o metilamina en la inversión de la activación nucleofílica, empleando calor (Gron y Pizzo, 1998, *Biochemistry*, 37: 6,009 a 6,014). Estas condiciones que permiten atrapar de forma fortuita péptidos α 2M se emplean para preparar los complejos α 2M -antigénica de la invención. Métodos para tal acoplamiento covalente han sido descritos previamente (Osada et al, 1987, supra.; Osada et al, 1988, supra.; Chu y Pizzo, de 1993, supra.; Chu et al, 1994, supra; Mitsuda et al., 1993, supra).

45 [0061] Por ejemplo, en una realización específica, suero fraccionado enriquecido para polipéptidos α 2M y moléculas antigénicas (que pueden o no estar ligados de forma covalente) se mezclan en presencia de una proteasa, amoniaco u otros pequeños amino nucleófilos como metilamina y etilamina. Ejemplos no limitantes de proteasas que se pueden utilizar son tripsina, elastasa pancreática porcina (PEP), elastasa de neutrófilos humanos, catepsina G, S. tripsina proteinasa V -8 aureus, a-quimotripsina, proteasa V8, papaína, y proteinasa K (ver Ausubel et al., (eds.), en "pr Current Protocols in Molecular Biology," Green Publishing Associates and Wiley Intersciences, Nueva York, 17.4.6-17.4.8). Un protocolo preferido, ejemplar, para complejar de forma covalente polipéptidos α 2M y moléculas antigénicas presentes en el suero se proporciona en el presente documento. En una realización particular, el

siguiente protocolo se puede utilizar para aumentar la cantidad de complejos $\alpha 2M$ - molécula antigénica. Los sueros fraccionados (100PI - 5 ml) que comprenden complejos covalente $\alpha 2M$ - molécula antigénica (1pg-20 mg) se tratan con metilamina, o una proteasa como la tripsina (0,92 mg de tripsina en aproximadamente 500 ml de PBS (solución salina tamponada con fosfato). Luego la mezcla se incuba durante 5-15 minutos a 37 °C. Si se utiliza tripsina, 500 ml de 4 mg / ml de fluoruro de metilo p-Afenyl sulfonilo (p-APMSF) se añaden a la solución para inhibir la actividad de la tripsina, y se incuban durante 2 horas a 25 °C. Opcionalmente, pueden ser eliminadas moléculas antigénicas libres por paso a través de una columna de permeación en gel.

[0062] Después de la complejación, los complejos inmunogénicos $\alpha 2M$ - molécula antigénica opcionalmente se pueden ensayar in vitro, utilizando, por ejemplo, el ensayo mixto de linfocitos célula diana (MLTC) que se describe a continuación. Una vez que los complejos inmunogénicos han sido aislados pueden ser opcionalmente caracterizados además en modelos animales utilizando los protocolos de administración y excipientes preferidos que discuten a continuación antes de su administración.

[0063] En una realización preferida, los complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica están aislados de suero de ratones por dilución 1:1 de suero con 0,04 M Tris pH 7.6, NaCl 0,15 M. La mezcla se aplica entonces a una columna Sephacryl S 300R (Sigma), equilibrada y eluida con el mismo tampón. Una columna de 65 ml se utiliza para unos 10 ml de suero. Las fracciones positivas para alfa (2) macroglobulina se determinan por dot blot y el tampón se cambia a un tampón de 0.01 M de fosfato de sodio a pH 7,5 mediante el uso de una columna PD-10. En un método alternativo, el buffer 0.01 M de fosfato de sodio a pH 7,5 se puede utilizar como tampón en la columna de 65 ml para eliminar la etapa de intercambio del tampón. Las fracciones que contienen complejo se aplican a una columna de sefarosa Concanavalina A. Los complejos unidos se eluyen con 0,2 M piranósido metilmannosa, o 5% piranósido metilmannosa, y se aplican a una columna PD-10 para cambiar el buffer a buffer de acetato de sodio 0,05 M pH 6,0, y se aplican a una columna DEAE equilibrada con tampón de acetato de sodio 0,01 M pH 6.0. La alfa (2) macroglobulina se eluye en forma pura, con 0,13 M de tampón acetato de sodio, y se analiza por SDS-PAGE e inmunoblotting. Otros métodos para el aislamiento de complejos conocidos en la técnica también se pueden utilizar (Dubin et al, 1984, Biochem Internacional 8 (4): 589-596; Okubo et al, 1981, Biochem. et Biophys. Acta 688:257 - 267; Nieuwenhuizen et al 1979, Biochem. et Biophysica Acta 580:129-139).

5.3. USOS TERAPÉUTICOS

5.3.1. METODOS PARA TRAMIENTO Y PREVENCIÓN DE CÁNCER

[0064] Como se describe en este documento, los métodos preferidos de tratamiento o prevención de cáncer incluyen aislar complejos $\alpha 2M$ de la persona en necesidad de tratamiento, y la administración de tales complejos al paciente como una forma de terapia autóloga. Dependiendo de la vía de administración, los complejos $\alpha 2M$ son aislados y purificados y administrados a la persona de forma autóloga (por ejemplo, para tratar el cáncer primario o metástasis del mismo), o a otras personas que necesitan tratamiento para el cáncer de un tipo similar de tejido, o para las personas en mayor riesgo de cáncer debido a antecedentes familiares o factores de riesgo ambientales. Los cánceres descritos en la sección 5.4 pueden tratarse o prevenirse mediante el uso de las composiciones farmacéuticas y métodos descritos en este documento.

[0065] Por ejemplo, como se describe en este documento, el tratamiento con las composiciones de la invención que comprende complejos $\alpha 2M$ aislados del suero de un paciente y preparados como se describe anteriormente puede iniciarse en cualquier momento después de la cirugía. Además, el tratamiento puede comenzar antes de o durante la cirugía. Sin embargo, si el paciente ha recibido quimioterapia, los complejos $\alpha 2M$ en general se administran después de un intervalo de cuatro semanas o más a fin de permitir que el sistema inmune se recupere. El régimen terapéutico puede incluir inyecciones semanales de las composiciones de la invención que comprenden complejos $\alpha 2M$, disueltos en una solución salina u otra solución fisiológicamente compatible. La ruta y el sitio de la inyección se varía cada vez, por ejemplo, la primera inyección se administra por vía subcutánea en el brazo izquierdo, la segunda inyección en el brazo derecho, la tercera inyección en la región abdominal izquierda, la cuarta inyección en la región abdominal derecha, la quinta inyección en el muslo izquierdo, la sexta inyección en el muslo derecho, etc. El mismo sitio se repite después de un intervalo de una o más inyecciones. Además, las inyecciones se dividen y cada mitad de la dosis se administra en un lugar diferente en el mismo día. En general, las primeras cuatro a seis inyecciones se administran en intervalos semanales. Posteriormente, dos a cincuenta inyecciones se administran en intervalos de dos semanas, seguido de un régimen de inyecciones a intervalos mensuales. Por otra parte, complejos $\alpha 2M$ aislados del suero del paciente pueden ser utilizado como una vacuna para la prevención del cáncer. Estas vacunas pueden ser utilizados por inyección en un paciente para estimular una respuesta inmune contra las células tumorales, células portadoras de antígenos tumorales. Se prefieren complejos autólogos de polipéptido $\alpha 2M$ - molécula antigénica. Las vacunas divulgadas aquí se pueden administrar antes, durante o después de la quimioterapia.

[0066] En una realización particular, el cáncer es metastásico. En otra realización particular, el cáncer es un tumor.

5 [0067] El efecto de la inmunoterapia con complejos de polipéptido $\alpha 2M$ - molécula antigénica en la progresión de las enfermedades neoplásicas puede ser supervisado por cualquier método conocido por un experto en la materia, incluyendo pero no limitado a medir: a) hipersensibilidad retardada como una evaluación de la inmunidad celular, b) la actividad de los linfocitos T citolíticos in vitro, c) niveles de antígenos específicos del tumor, por ejemplo, antígenos carcinoembrionarios (CEA), d) cambios en la morfología y la densidad de los tumores con técnicas tales como tomografía computarizada (TC) , e) medición de la variación del diámetro de los tumores mediante tomografía computarizada, f) cambios en los niveles de biomarcadores supuestos de riesgo para un determinado tipo de cáncer en individuos de alto riesgo, g) porcentaje de tejido necrótico en un tumor antes y después de tratamiento, h) cambios en la morfología de los tumores mediante una ecografía, i) cambios en la morfología de los tumores mediante imágenes de resonancia magnética (IRM), j) cambios en la morfología de los tumores mediante tomografía por emisión de positrones (PET), y k) cambios en la morfología de los tumores mediante ultrasonidos. Otras técnicas que pueden usarse incluyen la gammagrafía y la endoscopia

15 [0068] El efecto preventivo de la inmunoterapia con complejos de polipéptido $\alpha 2M$ - molécula antigénica también puede ser también estimado mediante la determinación de los niveles de un biomarcador supuesto de riesgo de un cáncer específico. Por ejemplo, en individuos con mayor riesgo de cáncer de próstata, se mide el antígeno prostático específico (PSA) por el procedimiento descrito por Brawer et al., 1992, J. Urol. 147:841-845, y al Catalana y otros, 1993, JAMA 270:948-958; o en individuos en riesgo de cáncer colorrectal, el CEA se mide por métodos conocidos en la técnica, y en individuos con mayor riesgo de cáncer de mama, se mide la hidroxilación-16 de estradiol por el procedimiento descrito por Schneider et al, 1982, Proc.. Natl. Acad. Ciencia. EE.UU. 79:3047-3051.

20 [0069] En una realización concreta, la utilidad preventiva y terapéutica de la invención se dirige a mejorar la inmunocompetencia del paciente con cáncer ya sea antes de la cirugía, en o después de la cirugía, y en la inducción de inmunidad tumoral específica a células cancerosas, con el objetivo de la inhibición del cáncer, y con el objetivo último clínico de regresión total y erradicación del cáncer.

25 [0070] De acuerdo con la presente descripción, una composición divulgada en este documento, que comprende complejos de péptidos antigénicos de proteínas citosólicas digeridas y / o derivadas de membrana de células antigénicas. Alfa (2) macroglobulina, es administrada a un sujeto con cáncer. En una realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a una mejora de cáncer, o por lo menos un síntoma perceptible de la misma. En otra realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a una mejora de al menos un parámetro físico mensurable asociado con el cáncer, no necesariamente perceptible por el sujeto. En otra realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a la inhibición de la progresión de un cáncer, ya sea física, por ejemplo, la estabilización de un síntoma perceptible, fisiológicamente, por ejemplo, estabilización de un parámetro físico, o ambos.

35 [0071] En ciertas realizaciones, las composiciones de la presente invención se administran a un sujeto como medida preventiva contra tal cáncer. Tal como se utiliza en este documento, "prevención" o "prevenir" se refiere a una reducción del riesgo de contraer un cáncer determinado. En un modo de la divulgación, las composiciones de la presente invención se administran como una medida preventiva a un sujeto que tiene una predisposición genética a un cáncer. En otro modo de la divulgación, las composiciones de la invención se administran como una medida preventiva a un sujeto frente a la exposición a agentes cancerígenos, incluyendo pero no limitado a productos químicos y / o radioterapia.

40 [0072] Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la administración de las composiciones de la invención conduce a una inhibición o reducción del crecimiento de las células cancerosas por lo menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80%, al menos el 75%, al menos el 70%, por lo menos 60%, al menos el 50%, por lo menos 45%, al menos el 40%, por lo menos 45%, por lo menos 35%, por lo menos 30%, al menos el 25%, por lo menos 20%, o al menos un 10% en relación con el crecimiento en ausencia de dicha composición.

45 [0073] Las composiciones preparadas por los métodos de la invención comprenden complejos de alfa-2-macroglobulina con una población de péptidos antigénicos. Las composiciones parecen inducir la reducción del tamaño del tumor y en última instancia pueden provocar una regresión del tamaño tumoral en los pacientes con cáncer tratados. Las composiciones preparadas por los métodos de la invención pueden mejorar la inmunocompetencia del sujeto y provocar inmunidad específica contra células preneoplásicas y neoplásicas. Estas composiciones tienen la capacidad para prevenir el crecimiento y la progresión de las células tumorales.

50 [0074] En ciertas realizaciones de los métodos descritos en este documento, complejos de $\alpha 2M$ - molécula antigénica se administran a pacientes con un historial familiar de cáncer, o a personas con riesgo de desarrollo de cáncer debido a factores ambientales. En otras realizaciones, los pacientes con lesiones precancerosas o pólipos son tratados con los métodos de la invención como profiláctico, descubrimiento por parte de los solicitantes de que pueden aislarse complejos de suero que son eficaces contra los cánceres que se podrían desarrollar potencialmente. En otras realizaciones, los pacientes son tratados con los métodos de la invención, en base al descubrimiento de que cánceres no detectables en etapas tempranas conducen a la presencia complejos de polipéptido $\alpha 2M$ - molécula antigénica que serían útiles para prevenir el desarrollo del cáncer. En otras realizaciones,

los pacientes en los que el cáncer no es todavía perceptible son tratados con los métodos de la invención, como medida profiláctica.

5.3.2. METODOS PARA TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

5 [0075] Para el tratamiento y prevención de las enfermedades infecciosas, complejos de $\alpha 2M$ - molécula antigénica se aíslan del fluido corporal de un mamífero que tiene una enfermedad infecciosa, y se utilizan como vacunas contra la enfermedad infecciosa. Como será apreciado por los expertos en la materia, los protocolos descritos en este documento pueden ser utilizados para aislar complejos de polipéptido $\alpha 2M$ - molécula antigénica de cualquier fluido corporal donde complejos de $\alpha 2M$ - molécula antigénica están presentes. Por ejemplo, las células pueden ser infectadas por el propio agente infeccioso. En una realización, complejos $\alpha 2M$ - molécula antigénica pueden ser aislados de suero que comprende antígenos de agentes que infectan células. En otra realización, los complejos $\alpha 2M$ - molécula antigénica de la invención pueden ser aislados de suero que comprende antígenos derivados de un patógeno intracelular o extracelular. La invención no se limita a tratar o prevenir enfermedades infecciosas causadas por patógenos intracelulares o extracelulares. Muchos microorganismos de relevancia médica se han descrito ampliamente en la literatura, por ejemplo, ver Mandell GL, Bennett JE, Dolin y R., Mandell, Douglas y Principles and Practice of Infectious Diseases, de Bennett, Churchill Livingstone, Philadelphia, Pennsylvania 2000.

10 [0076] Según lo divulgado aquí, preferiblemente, un método para el tratamiento o prevención de una enfermedad infecciosa comprende aislar complejo alfa (2) macroglobulina a partir del suero de un paciente y administrar el complejo aislado al paciente en un momento en que el paciente está en necesidad del tratamiento. Complejos de de polipéptido $\alpha 2M$ asociados de forma covalente o no covalente a moléculas antigénicas del agente infeccioso son purificados a partir del suero.

15 [0077] Según lo divulgado aquí, preferentemente, las vacunas de complejos purificados $\alpha 2M$ - molécula antigénica, pueden tener especial utilidad en el tratamiento de enfermedades humanas causadas por patógenos intracelulares o extracelulares. Se aprecia, sin embargo, que las vacunas desarrolladas con los principios descritos en este documento serán útiles en el tratamiento de las enfermedades de otros mamíferos, por ejemplo, animales de granja como: bovinos, caballos, ovejas, cabras y cerdos, y animales domésticos, incluyendo: gatos; y perros, que de igual forma son causadas por patógenos intracelulares o extracelulares.

20 [0078] Pueden ser preparadas vacunas que estimulan respuestas inmunes a cualquiera de los agentes patógenos de enfermedades infecciosas descritos en la Sección 5.5. El efecto de la inmunoterapia con complejos modificados de polipéptidos $\alpha 2M$ - molécula antigénica en la progresión de las enfermedades infecciosas puede ser controlado por los métodos conocidos por los expertos en la materia.

25 [0079] Las composiciones preparadas por los métodos de la invención comprenden complejos de alfa (2) macroglobulina con una población de péptidos antigénicos. Las composiciones preparadas por los métodos de la invención pueden mejorar la inmunocompetencia y provocar inmunidad específica sujeto frente a agentes infecciosos. Estas composiciones tienen la capacidad de prevenir la aparición y progresión de las enfermedades infecciosas.

30 [0080] En una realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a una mejora de una enfermedad infecciosa, o por lo menos un síntoma perceptible de la misma. En otra realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a una mejora de al menos un parámetro físico mensurable asociado con una enfermedad infecciosa, no necesariamente perceptible por el sujeto. En otra realización, "tratar" o "tratamiento" se refiere a la inhibición de la progresión de una enfermedad infecciosa, ya sea físicamente, por ejemplo, estabilización de un síntoma perceptible, fisiológicamente, por ejemplo, estabilización de un parámetro físico, o ambos.

35 [0081] Las composiciones preparadas por los métodos de la invención comprenden complejos de alfa-2-macroglobulina con una población de péptidos antigénicos. Las composiciones preparadas por los métodos de la invención pueden mejorar la inmunocompetencia del sujeto y provocar inmunidad específica frente a agentes infecciosos. Estas composiciones tienen la capacidad de prevenir la aparición y progresión de las enfermedades infecciosas.

40 [0082] En ciertas modalidades de la comunicación, las composiciones de la presente invención se administran a un sujeto como medida preventiva contra tal enfermedad infecciosa. Tal como se utiliza en este documento, la "prevención" o "prevenir" se refiere a una reducción del riesgo de contraer una determinada enfermedad infecciosa. En otro modo de la realización, las composiciones de la invención se administran como una medida preventiva a un sujeto frente a la exposición a un agente de una enfermedad infecciosa.

45 [0083] Por ejemplo, la administración de las composiciones de la invención conducen a una inhibición o reducción del crecimiento de agentes infecciosos por lo menos el 99%, al menos el 95%, al menos el 90%, al menos el 85%, al menos el 80% , al menos el 75%, al menos el 70%, por lo menos 60%, al menos el 50%, por lo menos 45%, al menos el 40%, por lo menos 45%, por lo menos 35%, por lo menos 30%, por lo menos 25% , por lo menos 20%, o menos un 10% en relación con el crecimiento en ausencia de dicha composición.

[0084] Las composiciones y los métodos descritos en este documento con complejos alfa (2) macroglobulina se pueden administrar en combinación con otros agentes terapéuticos como una pauta terapéutica de combinación. Otros agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a complejos proteína de choque térmico-peptido, agentes anti-neoplásicos, anticuerpos, citocinas, antivirales / antifúngicos / antibióticos y adyuvantes.

5 [0085] La terapia de combinación se refiere al uso de los complejos α 2M de la invención con otra modalidad para prevenir o tratar el cáncer y / o enfermedades infecciosas. En el contexto del tratamiento y la prevención del cáncer, la terapia de combinación se refiere al uso de los complejos α 2M de la invención con otra modalidad para prevenir o tratar el cáncer. La administración de los complejos de la invención puede aumentar el efecto de los agentes contra el cáncer, y viceversa. En el contexto del tratamiento y la prevención de las enfermedades infecciosas, la administración de los complejos de la invención puede aumentar el efecto de antiinfecciosos, y viceversa. Preferiblemente, esta forma adicional de modalidad es una modalidad no basada en α 2M, como un componente. Este enfoque se denomina comúnmente terapia de combinación, terapia adyuvante o terapia conjunta (los términos se utilizan indistintamente en este documento). Con la terapia de combinación, se puede observar potencia aditiva o efecto terapéutico aditivo. Resultados sinérgicos donde la eficacia terapéutica es mayor que la aditiva también se pueden esperar. El uso de la terapia de combinación también puede proporcionar mejores perfiles terapéuticos que la administración de la modalidad de tratamiento o los complejos α 2M solos. El efecto aditivo o el sinérgico puede permitir que la dosis y / o frecuencia de dosificación de una o de ambas modalidades se ajuste para reducir o evitar los efectos no deseados o adversos.

20 [0086] En diversas realizaciones específicas, la terapia combinada comprende la administración de complejos α 2M - molécula antigénica a un sujeto tratado con una modalidad de tratamiento en donde la modalidad de tratamiento administrado solo no es clínicamente adecuada para tratar el sujeto de tal manera que el sujeto necesita una terapia eficaz adicional, por ejemplo, un sujeto no responde a tratamiento sin la administración de complejos α 2M . Incluidos en tales realizaciones están métodos que comprenden la administración de complejos α 2M a un sujeto que recibe una modalidad de tratamiento en donde el sujeto ha respondido a la terapia pero todavía sufre efectos secundarios, recaída, desarrolla resistencia, etc Este sujeto podría ser que no respondiera o fuera refractario al tratamiento con la modalidad de tratamiento sola, es decir, al menos una parte significativa de las células de cáncer no mueren o su división celular no se detiene o por lo menos una parte significativa de patógenos o agentes infecciosos no son muertos. Como se describe en este documento, la administración de unos complejos α 2M a un sujeto refractario a una sola modalidad de tratamiento también puede mejorar la eficacia terapéutica de la modalidad de tratamiento cuando se administra como se contempla en los métodos descritos en este documento. La determinación de la eficacia de una modalidad de tratamiento se puede probar in vivo o in vitro usando métodos conocidos en la técnica.

35 [0087] Significados de refractarios aceptados en la técnica son bien conocidos en el contexto del cáncer y enfermedades infecciosas. En una realización, un cáncer es refractario o no responde, cuando, respectivamente, el número de células de cáncer no se ha reducido significativamente, o ha aumentado. En otra realización, una enfermedad infecciosa es refractaria o no responde, cuando, respectivamente, el número de agentes patógenos no se ha reducido significativamente, o ha aumentado.

40 [0088] De acuerdo con la presente descripción, los complejos de la invención pueden ser utilizados en combinación con muchos tipos diferentes de modalidades de tratamiento. Algunas de esas modalidades son particularmente útiles para un tipo específico de cáncer o enfermedad infecciosa y se discuten en la Sección 5.4 y 5.5, respectivamente. Muchas otras modalidades tienen un efecto sobre el funcionamiento del sistema inmune y son de aplicación general a ambas enfermedades neoplásicas e infecciosas.

45 [0089] En una realización, los complejos de la invención se utilizan en combinación con uno o más modificadores de la respuesta biológica para tratar el cáncer o las enfermedades infecciosas. Un grupo de modificadores de la respuesta biológica es las citocinas. En una realización tal, una citoquina se administra a un sujeto que recibe complejos α 2M. En varias realizaciones, se puede utilizar una o más citoquinas (s) y se seleccionan del grupo que consiste de , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IFN α , IFN β , IFN γ , TNF α , TNF β , G-CSF, GM-CSF, TGF- β , IL-15, IL-18, GM-CSF, INF- γ , INF- α , SLC, proteína-2 endotelial que activa monocitos(EMAP2), , MIP-3 α MIP-3 β o un gen MHC, como el HLA-B7. Además, otras citocinas ejemplares incluyen a otros miembros de la familia TNF, incluyendo pero no limitado a ligando inductor de apoptosis relacionados con TNF- α (TRAIL), citoquinas inducidas por activación relacionada con TNF- α (TRANCE), débil inductor de apoptosis relacionado con TNF- α (TWEAK), ligando CD40 (CD40L), linfotoxina alfa (LT- α), linfotoxina beta (LT- β), ligando OX40 (OX40L), ligando de Fas (FasL), ligando CD27 (CD27L), ligando CD30 (CD30L), ligando 41BB (41BBL), APRIL, LIGHT, TL1, TNFSF16, TNFSF17 y AITR-L, o una parte funcional de IOS mismoS. Véase, por ejemplo, Kwon et al., 1999, Curr. Opin. Immunol. 11:340-345 para una revisión general de la familia TNF. Preferiblemente, los complejos α 2M se administran antes de las modalidades de tratamiento. En una realización particular, los complejos de la invención se administran a un sujeto que recibe ciclofosfamida en combinación con IL-12 para el tratamiento del cáncer.

- 5 [0090] En otra realización, los complejos de la invención se utilizan en combinación con uno o más modificadores de la respuesta biológica que son agonistas o antagonistas de varios ligandos, receptores y moléculas de transducción de señales. Por ejemplo, los modificadores de respuesta biológica incluyen, pero no se limitan a, agonistas de los receptores tipo Toll (TLR-2, TLR-7, TLR-8 y TLR-9; LPS; agonistas de 41BB, OX40, ICOS y CD40 y antagonistas de ligando Fas, PD1, y CTLA-4. Estos agonistas y antagonistas pueden ser anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, péptidos, compuestos peptidomiméticos, y polisacáridos..
- 10 [0091] En otra realización, los complejos de la invención se utilizan en combinación con uno o más modificadores de la respuesta biológica que son ácidos nucleicos inmunoestimulantes. Tales ácidos nucleicos, muchos de las cuales son oligonucleótidos que comprende un motivo CpG no metilado, son mitogénicos de linfocitos de vertebrados, y se sabe que mejoran la respuesta inmune. Ver Woolridge, et al., Blood 1997, 89:2994-2998. Estos oligonucleótidos se describen en los números de publicación de patente internacional WO 01/22972, WO 01/51083, WO 98/40100 y WO 99/61056, así como las patentes de Estados Unidos N°. 6,207,646, 6,194,388, 6,218,371, 6,239,116, 6,429,199 y 6,406,705 .
- 15 [0092] Otros tipos de oligonucleótidos inmunoestimulantes como oligodesoxinucleótidos fosforotioato que contienen motivos YPG y CPR han sido descritos por Kandimalla et al. en "Effect of Chemical Modifications of Cytosine and Guanine in a CpG-Motif of Oligonucleotides: Structure-Immunostimulatory Activity Relationships." Bioorganic & Medicinal Chemistry 9:807-813 (2001).
- 20 [0093] También son abarcados oligonucleótidos inmunoestimulantes que carecen de dinucleótidos CpG que cuando se administran por vía mucosal (incluyendo administración de dosis baja) o en dosis altas por vía parenteral, aumentan las respuestas de anticuerpos, a menudo tanto como lo hicieron los ácidos nucleicos CpG, sin embargo la respuesta fue sesgada por Th2 (IgG1>> IgG2a). Ver la Publicación de Patente de los Estados Unidos N ° 20010044416 A1.
- 25 [0094] Los métodos de determinación de la actividad de oligonucleótidos inmunoestimulantes se pueden llevar a cabo como se describe en las patentes y publicaciones mencionadas. Por otra parte, los oligonucleótidos inmunoestimulantes se pueden modificar dentro del esqueleto de fosfato, azúcar, vínculos nitrogenados e internucleótidos con el fin de modular la actividad. Estas modificaciones son conocidas por los expertos en la materia.
- 30 [0095] En otra realización, los complejos de la invención se utilizan en combinación con uno o más adyuvantes. El adyuvante(s) puede ser administrado por separado o presente en una composición en mezcla con los complejos de la invención. Un adyuvante sistémico es un adyuvante que puede ser entregado por vía parenteral. Adyuvantes sistémicos incluyen adyuvantes que crean un efecto de depósito, coadyuvantes que estimulan el sistema inmunológico y adyuvantes que hacen las dos cosas. Un adyuvante que crea un efecto de depósito como se usa aquí es un adyuvante que hace que el antígeno se libere lentamente en el cuerpo, por lo tanto prolongando la exposición de las células inmunes a los antígenos. Esta clase de adyuvantes incluye pero no se limita a alumbre (por ejemplo, hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio), o formulaciones a base de emulsión, incluido el aceite mineral, aceite no mineral, emulsión de agua-aceite o aceite en agua en aceite, emulsiones de aceite en agua tales como Seppic serie ISA de adyuvantes Montanide (por ejemplo, Montanide ISA 720, AirLiquide, París, Francia), MF-59 (un escualeno en emulsión de agua estabilizada con Span 85 y Tween 80; Chiron Corporation , Emeryville, California, y PROVAX (una emulsión de aceite en agua que contiene un detergente estabilizador y un agente formador de micela; IDEC, Pharmaceuticals Corporation, San Diego, Calif.).
- 35 [0096] Otros adyuvantes estimulan el sistema inmunológico, por ejemplo, causan que una célula inmune produzca y secrete citocinas o IgG. Esta clase de adyuvantes incluye pero no se limita a ácidos nucleicos inmunoestimulantes, tales como oligonucleótidos CpG; saponinas purificadas de la corteza del árbol Q. saponaria, como QS21; poli [di (carboxilatofen-oxi) fosfaceno (polímero PCPP; Virus Research Institute, EE.UU.), derivados de lipopolisacáridos (LPS) como monofosforil lípido A (MPL; Ribi ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, Montana), muramilo dipéptido (MDP; Ribi) dipéptido andtreonil-muramilo (t-MDP; Ribi) ; OM-174 (un disacárido de glucosamina relacionado con lípido A, OM Pharma SA, en Meyrin, Suiza), y el factor de elongación de Leishmania (una proteína purificada de Leishmania; Corixa Corporation, Seattle, Washington). Preferiblemente, los complejos de la invención se utilizan en combinación con QS21 y otro ácido nucleico inmunoestimulante, como, pero no limitado a un oligonucleótido CG.
- 40 [0097] Otros adyuvantes sistémicos son adyuvantes que crean un efecto de depósito y estimulan el sistema inmunológico. Estos compuestos son los compuestos que tienen ambas de las funciones antes definidas de los adyuvantes sistémicos. Esta clase de adyuvantes incluye pero no se limita a ISCOMs (complejos inmunoestimulantes que contienen saponinas mixtas, y forman partículas de tamaño de virus con poros que pueden contener antígeno; CSL, Melbourne, Australia); SB-AS2 (sistema adyuvante # 2 SmithKline Beecham que es una emulsión aceite en agua que contiene MPL y QS21; SmithKline Beecham Biologicals [SBB], Rixensart, Bélgica); SB-AS4 (sistema adyuvante # 4 SmithKline Beecham, que contiene alumbre y MPL, SBB, Bélgica); copolímeros de bloque no iónicos que forman micelas como CRL 1005 (estos contienen una cadena lineal de polioxipileno hidrofóbico flanqueada por cadenas de polioxietileno; Vaxcel, Inc., Norcross, Georgia), y formulación adyuvante
- 45 [0098] Otros adyuvantes sistémicos son adyuvantes que crean un efecto de depósito y estimulan el sistema inmunológico. Estos compuestos son los compuestos que tienen ambas de las funciones antes definidas de los adyuvantes sistémicos. Esta clase de adyuvantes incluye pero no se limita a ISCOMs (complejos inmunoestimulantes que contienen saponinas mixtas, y forman partículas de tamaño de virus con poros que pueden contener antígeno; CSL, Melbourne, Australia); SB-AS2 (sistema adyuvante # 2 SmithKline Beecham que es una emulsión aceite en agua que contiene MPL y QS21; SmithKline Beecham Biologicals [SBB], Rixensart, Bélgica); SB-AS4 (sistema adyuvante # 4 SmithKline Beecham, que contiene alumbre y MPL, SBB, Bélgica); copolímeros de bloque no iónicos que forman micelas como CRL 1005 (estos contienen una cadena lineal de polioxipileno hidrofóbico flanqueada por cadenas de polioxietileno; Vaxcel, Inc., Norcross, Georgia), y formulación adyuvante
- 50 [0099] Otros adyuvantes sistémicos son adyuvantes que crean un efecto de depósito y estimulan el sistema inmunológico. Estos compuestos son los compuestos que tienen ambas de las funciones antes definidas de los adyuvantes sistémicos. Esta clase de adyuvantes incluye pero no se limita a ISCOMs (complejos inmunoestimulantes que contienen saponinas mixtas, y forman partículas de tamaño de virus con poros que pueden contener antígeno; CSL, Melbourne, Australia); SB-AS2 (sistema adyuvante # 2 SmithKline Beecham que es una emulsión aceite en agua que contiene MPL y QS21; SmithKline Beecham Biologicals [SBB], Rixensart, Bélgica); SB-AS4 (sistema adyuvante # 4 SmithKline Beecham, que contiene alumbre y MPL, SBB, Bélgica); copolímeros de bloque no iónicos que forman micelas como CRL 1005 (estos contienen una cadena lineal de polioxipileno hidrofóbico flanqueada por cadenas de polioxietileno; Vaxcel, Inc., Norcross, Georgia), y formulación adyuvante
- 55 [0100] Otros adyuvantes sistémicos son adyuvantes que crean un efecto de depósito y estimulan el sistema inmunológico. Estos compuestos son los compuestos que tienen ambas de las funciones antes definidas de los adyuvantes sistémicos. Esta clase de adyuvantes incluye pero no se limita a ISCOMs (complejos inmunoestimulantes que contienen saponinas mixtas, y forman partículas de tamaño de virus con poros que pueden contener antígeno; CSL, Melbourne, Australia); SB-AS2 (sistema adyuvante # 2 SmithKline Beecham que es una emulsión aceite en agua que contiene MPL y QS21; SmithKline Beecham Biologicals [SBB], Rixensart, Bélgica); SB-AS4 (sistema adyuvante # 4 SmithKline Beecham, que contiene alumbre y MPL, SBB, Bélgica); copolímeros de bloque no iónicos que forman micelas como CRL 1005 (estos contienen una cadena lineal de polioxipileno hidrofóbico flanqueada por cadenas de polioxietileno; Vaxcel, Inc., Norcross, Georgia), y formulación adyuvante

Syntex (SAF, una emulsión de aceite en agua que contiene Tween 80 y un copolímero de bloque no iónico, Syntex Chemicals, Inc., en Boulder, Colorado).

[0098] Los adyuvantes mucosales útiles según la invención son adyuvantes que son capaces de inducir una respuesta inmune mucosal en un sujeto cuando se administra a una superficie mucosal junto con complejos de la invención. Los mucosales adyuvantes incluyen pero no se limitan a ácidos nucleicos CpG (p. ej., solicitud de patente PCT publicada WO 99/61056), toxinas Bacterianas: p. ej., toxina Cólera (CT), derivados CT que incluyen pero no se limitan a subunidad CT B (CTB) (Wu et al., 1998, Tochikubo et al., 1998); CTD53 (Val to Asp) (Fontana et al., 1995); CTK97 (Val to Lys) (Fontana et al., 1995); CTK104 (Tyr to Lys) (Fontana et al., 1995); CTD53/K63 (Val to Asp, Ser to Lys) (Fontana et al., 1995); CTH54 (Arg to His) (Fontana et al., 1995); CTN107 (His to Asn) (Fontana et al., 1995); CTE114 (Ser to Glu) (Fontana et al., 1995); CTE112K (Glu to Lys) (Yamamoto et al., 1997a); CTS61F (Ser to Phe) (Yamamoto et al., 1997a, 1997b); CTS106 (Pro to Lys) (Douce et al., 1997, Fontana et al., 1995); and CTK63 (Ser to Lys) (Douce et al., 1997, Fontana et al., 1995), toxina ocluyente Zonula, zot, enterotoxina Escherichia coli lánil al calor, Toxina Lábil (LT), derivados LT que incluyen pero no se limitan a subunidad LT B (LTB) (Verweij et al., 1998); LT7K (Arg to Lys) (Komase et al., 1998, Douce et al., 1995); LT61F (Ser to Phe) (Komase et al., 1998); LT112K (Glu to Lys) (Komase et al., 1998); LT118E (Gly to Glu) (Komase et al., 1998); LT146E (Arg to Glu) (Komase et al., 1998); LT192G (Arg to Gly) (Komase et al., 1998); LTK63 (Ser to Lys) (Marchetti et al., 1998, Douce et al., 1997, 1998, Di Tommaso et al., 1996); and LTR72 (Ala to Arg) (Giuliani et al., 1998), toxina Pertussis, PT. (Lycke et al., 1992, Spangler BD, 1992, Freytag and Clemments, 1999, Roberts et al., 1995, Wilson et al., 1995) incluyendo PT-9K/129G (Roberts et al., 1995, Croyley et al., 1995); derivados de toxinas (ver abajo) (Holmgren et al., 1993, Verweij et al., 1998, Rappuoli et al., 1995, Freytag and Clements, 1999); derivados de Lipid A (p.ej., monofosforilo lipid A, MPL) (Sasaki et al., 1998, Vancott et al., 1998; derivados de Dipéptido Muramil (MDP) (Fukushima et al., 1996, Ogawa et al., 1989, Michalek et al., 1983, Morisaki et al., 1983); proteínas de membrana externa bacteriana (p.ej., protein A de superficie exterior (OspA) lipoproteína of Borrelia burgdorferi, proteínas de membrana externa de Neisseria meningitidis) (Marinero et al., 1999, Van de Verg et al., 1996); emulsiones aceite en agua (e.g., MF59) (Barchfield et al., 1999, Verschoor et al., 1999, O'Hagan, 1998); sales de aluminio (Isaka et al., 1998, 1999); y Saponins (e.g., QS21) Aquila Biopharmaceuticals, Inc., Worster, Me.) (Sasaki et al., 1998, MacNeal et al., 1998), ISCOMs, MF-59 (una emulsión de escualeno en agua estabilizada con Span 85 y Tween 80; Chiron Corporation, Emeryville, Calif.); y serie Seppic ISA of adyuvantes Montanide (p.ej., Montanide ISA 720; AirLiquide, Paris, France); PROVAX (una emulsión de aceite en agua que contiene un detergente estabilizante y un agente formador de micela; IDEC Pharmaceuticals Corporation, San Diego, Calif.); Syntex Adjuvant Formulation (SAF; Syntex Chemicals, Inc., Boulder, Colo.); poli[di(carboxilatofenoxi) fosfazeno (polímero PCPP; Virus Research Institute, USA) y factor de elongación de Leishmania (Corixa Corporation, Seattle, Wash.).

[0099] En otra realización, los complejos de la invención se administran en combinación con uno o más agentes inmunoterapéuticos, tales como anticuerpos y vacunas. Preferentemente, los anticuerpos tienen actividad terapéutica in vivo y/o usos profilácticos contra cáncer y/o enfermedades infecciosas. Ejemplos de anticuerpos terapéuticos y profilácticos incluyen pero no se limitan a, MDX-010 (Medarex, NJ) que es un anticuerpo anti-CTLA-4 humanizado actualmente en uso clínico para el tratamiento de cáncer de próstata; SYNAGIS® (MedImmune, MD) que es un anticuerpo monoclonal de virus sincitial anti respiratorio humanizado (RSV) para el tratamiento de pacientes con infección RSV; HERCEPTIN® (Trastuzumab) (Genentech, CA) que es un anticuerpo monoclonal anti-HER2 humanizado para el tratamiento de pacientes con cáncer metastático de mama. Otros ejemplos son un F(ab')₂ anti-CD18 humanizado (Genentech); CDP860 que es un F(ab')₂ anti-CD18 humanizado (Celltech, UK); PRO542 que es un anticuerpo anti-HIV gp 120 fusionado con CD4 (Progenics/Genzyme Transgenics); Ostavir que es un anticuerpo anti virus de Hepatitis B humano (Protein Design Lab/Novartis); PROTOVIR™ que es un anticuerpo humanizado anti-CMV IgG1 (Protein Design Lab/Novartis); MAK-195 (SEGARD) que es un F(ab')₂ anti-TNF-α de ratón (Knoll Pharma/BASF); IC14 que es un anticuerpo anti-CD14 (ICOS Pharm); un anticuerpo IgG1 humanizado anti-VEGF (Genentech); OVAREX™ que es un anticuerpo anti-CA 125 (Altarex); PANOREX™ que es un anticuerpo IgG2a antígeno de superficie celular anti-17-IA de ratón (Glaxo Wellcome/Centocor); BEC2 que es un anticuerpo IgG anti-idiotipo (epitopo GD3) de ratón (ImClone System); IMC-C225 que es un anticuerpo quimérico anti-EGFR IgG (ImClone System); VITAXIN™ que es un anticuerpo anti-αVβ3 integrin humanizado (Applied Molecular Evolution/MedImmune); Campath 1H/LDP-03 que es un anticuerpo humanizado anti CD52 IgG1 (Leukosite); Smart M195 que es un anticuerpo humanizado anti-CD33 IgG (Protein Design Lab/Kanebo); RITUXAN™ que es un anticuerpo quimérico anti-CD20 IgG1 (IDEC Pharm/Genentech, Roche/Zettyaku); LYMPHOCIDE™ que es un anticuerpo which is a humanized anti-CD22 IgG antibody (Immunomedics); Smart ID10 que es un anticuerpo humanizado anti-HLA (Protein Design Lab); ONCOLY™ (Lym-1) es un anticuerpo radioetiquetado de ratón anti-HLA DIAGNOSTIC REAGENT (Techniclone); ABX-IL8 es un anticuerpo humano anti-IL8 (Abgenix); anti-CD11a es un anticuerpo humanizado IgG1 (Genentech/Xoma); ICM3 es un anticuerpo humanizado anti-ICAM3 (ICOS Pharm); IDEC-114 es un anticuerpo primatizado anti-CD80 (IDEC Pharm/Mitsubishi); ZEVALIN™ es un anticuerpo radioetiquetado de ratón anti-CD20 (IDEC/Schering AG); IDEC-131 es un anticuerpo humanizado anti-CD40L (IDEC/Eisai); IDEC-151 es un anticuerpo primatizado anti-CD4 (IDEC); IDEC-152 es un anticuerpo primatizado anti-CD23 (IDEC/Seikagaku); SMART anti-CD3 es un anticuerpo humanizado anti-CD3 IgG (Protein Design Lab); 501.1 es un anticuerpo humanizado anti-complemento factor 5 (C5) (Alexion Pharm); D2E7 es un anticuerpo humanizado anti-TNF-α (CAT/BASF); CDP870 es un fragmento Fab humanizado anti-TNF-α (Celltech); IDEC-151 es un anticuerpo

5 primatizado anti-CD4 IgG1 (IDEC Pharm/SmithKline Beecham); MDXCD4 es un anticuerpo humano anti-CD4 IgG (Medarex/Eisai/Genmab); CDP571 es un anticuerpo humanizado IgG4 anti-TNF- α (Celltech); LDP-02 es un anticuerpo humanizado anti- α 4 β 7 (LeukoSite/Genentech); OrthoClone OKT4A es un anticuerpo humanizado anti-CD4 IgG (Ortho Biotech); ANTOVA™ es un anticuerpo IgG humanizado anti-CD40L (Biogen); ANTEGREN™ es un anticuerpo IgG humanizado anti-VLA-4 (Elan); MDX-33 es un anticuerpo humano anti-CD64 (Fc γ R) (Medarex/Centeon); SCH55700 es un anticuerpo IgG4 humanizado anti-IL-5 (Colltech/Schering); SB-240563 and SB-240683 son anticuerpos humanizados anti-IL-5 y IL-4, respectivamente, (SmithKline Beecham); rhuMab-E25 es un anticuerpo humanizado anti-IgE IgG1 (Genentech/Norvartis/Tanox Biosystems); ABX-CBL es un anticuerpo IgM de ratón anti CD-147 (Abgenix); BTI-322 es un anticuerpo IgG de rata anti-CD2 (Medimmune/Bio Transplant); Orthoclone/OKT3 es un anticuerpo IgG2a de ratón anti-CD3 (ortho Biotech); SIMLTLECT™ es un anticuerpo IgG1 quimérico anti-CD25 (Novartis Pharm); LDP-01 es un anticuerpo IgG humanizado anti- β 2-integrin (LeukoSite); Anti-LFA-1 es F(ab')₂ anti CD18 de ratón (Pasteur-Merieux/Immunotech); CAT-152 es un anticuerpo humano anti-TGF- β 2 (Cambridge Ab Tech); and Corsevin M es un anticuerpo quimérico anti-Factor VII (Centocor). Preferentemente, los complejos de la invención se administran en combinación con anticuerpos anti-CTLA4. Preferentemente, los complejos de la invención se administran en combinación con anticuerpos anti-41BB. Los reactivos inmunoreactivos antes listados, así como cualquier otro reactivos inmunoreactivo, pueden administrarse según cualquier pauta conocida por los expertos en la materia, incluyendo las pautas recomendadas por los suministradores de los reactivos inmunoreactivos.

20 [0100] En el contexto del tratamiento o la prevención de las enfermedades infecciosas, los complejos alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica se administran a los pacientes en riesgo de desarrollo de enfermedad infecciosa debida a factores ambientales o familiares. En otras realizaciones, los pacientes con síntomas tempranos de enfermedades infecciosas se tratan con los métodos descritos en este documento como profiláctico, en base al concepto que se pueden aislar a partir de suero complejos que son eficaces contra las enfermedades infecciosas que podrían desarrollarse. En otras realizaciones, los pacientes sin síntomas de enfermedades infecciosas se tratan con los métodos de la invención, en base a la creencia de que las infecciones tempranas no detectables de patógenos podrían dar lugar a la presencia de complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica que serían útiles para prevenir el desarrollo de la enfermedad infecciosa. En otras realizaciones, pacientes sanos se tratan con los métodos descritos en este documento, como medida profiláctica basada en el concepto de que un paciente puede tener formas de enfermedades infecciosas que aún no son detectables.

30 [0101] Para determinar la eficacia de las composiciones y métodos descritos en este documento un experto en la materia puede utilizar ensayos estándar de detección de la infección, incluyendo pero no limitado a, ensayos de titulación de anticuerpos, medición de la carga viral mediante la tecnología PCR, por ejemplo, para detectar ácidos nucleicos específicos virales, análisis de células de sangre, ensayos de placa, ensayos de fago, o cultivo de muestras bacterianas. Tales métodos para detectar y medir los niveles de infección son bien conocidos por los expertos en la materia.

40 [0102] En otra realización de la divulgación, en el contexto de los tratamientos y métodos profilácticos para el cáncer, cada uno de los métodos anteriores comprende la administración de un complejo α 2M, preferiblemente un complejo α 2M purificado, a un sujeto que recibe una combinación de modalidades de tratamiento para el tratamiento del cáncer. Preferiblemente, el complejo α 2M se asocia con una molécula antigénica que muestra la antigenicidad del tipo de cáncer tratado.

5.4. CÁNCERES OBJETIVO

45 [0103] Los métodos y terapias de combinación de los mismos aquí divulgados abarcan la administración de las composiciones de la invención que comprenden una o más modalidades para el uso adyuvante que ayudan en la prevención o el tratamiento de cáncer, cuyas modalidades incluyen, pero no se limitan a, agentes quimioterapéuticos, inmunoterapia, agentes anti-angiogénicos, citocinas, hormonas, anticuerpos, polinucleótidos, radiación y agentes terapéuticos fotodinámicos. En realizaciones específicas, la terapia de combinación que implica la administración de composiciones farmacéuticas de la invención puede ser utilizada para prevenir la recurrencia del cáncer, inhibir la metástasis, o inhibir el crecimiento y / o propagación del cáncer o metástasis.

50 [0104] Los tipos de cánceres que pueden tratarse o prevenirse con los métodos y composiciones farmacéuticas aquí descritos incluyen, pero no se limitan a sarcomas y carcinomas humanos, por ejemplo, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomas, rhabdomiosarcoma, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma basocelular, adenocarcinoma, carcinoma de glándula sudorípara, carcinoma de glándula sebácea, carcinoma papilar, adenocarcinoma papilar, cistoadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales, hepatoma, carcinoma de conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello uterino, tumor testicular, cáncer de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma,

melanoma, neuroblastoma, retinoblastoma, leucemias, por ejemplo, leucemia linfocítica aguda y leucemia mieloide aguda (mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica y eritroleucemia), leucemia crónica (leucemia mielocítica crónica (granulocítica) y leucemia linfocítica crónica), y policitemia vera, linfoma (enfermedad de Hodgkin y enfermedad no- de Hodgkin), mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenström, y enfermedad de cadena pesada.

[0105] Hay muchas razones por las que la inmunoterapia conforme a lo dispuesto por la actual divulgación es deseada para su uso en pacientes con cáncer. En primer lugar, si los pacientes con cáncer se encuentran inmunodeprimidos, la cirugía con anestesia y posterior quimioterapia puede empeorar la inmunosupresión. Con la inmunoterapia adecuada en el período preoperatorio, esta inmunosupresión se puede prevenir o revertir. Esto podría dar lugar a menos complicaciones infecciosas y a acelerar la cicatrización de heridas. En segundo lugar, el volumen del tumor es mínimo después de la cirugía y es más probable que la inmunoterapia sea eficaz en esta situación. Una tercera razón es la posibilidad de que las células tumorales se desprendan en la circulación en la cirugía y la inmunoterapia efectiva aplicada en este momento puede eliminar estas células.

[0106] Los métodos preventivos y terapéuticos aquí descritos están dirigidos a mejorar la inmunocompetencia del paciente con cáncer ya sea antes de la cirugía, en o después de la cirugía, y para inducir inmunidad tumoral específica a las células cancerosas, con el objetivo de la inhibición del cáncer, y con el objetivo clínico último de regresión total y erradicación del cáncer. Los métodos y composiciones farmacéuticas divulgados aquí también se pueden utilizar en personas con mayor riesgo de un tipo particular de cáncer, por ejemplo, debido a antecedentes familiares o factores de riesgo ambientales.

[0107] En varias realizaciones, se administra uno o más agentes anti-cáncer, en adición a los complejos de la invención, para tratar a un paciente de cáncer. Un agente anti-cáncer se refiere a cualquier molécula o compuesto que ayuda en el tratamiento de tumores o cáncer. Ejemplos de agentes anti-cáncer que pueden usarse en los métodos aquí divulgados incluyen, pero no se limitan a, acivicina, aclarubicina, hidrocloreto de acodazol, acronina, adozelesina, aldesleucina, altretamina, ambomicina, acetato de ametantrona, aminoglutetimida, amsacrina, anastrozol, antramycin, asparaginasa, asperlina, azacitidina, azetepa, azotomicina, batimastato, benzodopa, bicalutamida, hidrocloreto de bisantreno, dimesilato de bisnafida, bizelesina, sulfato de bleomicina, brequinar sódico, bropirimina, busulfano, cactinomicina, calusterona, caracemida, carbetimer, carboplatino, carmustina, hidrocloreto de carubicina, carzalesina, cedefingol, clorambucil, cirolemicina, cisplatino, cladribina, mesilato de crisnatol, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, dactinomicina, hidrocloreto de daunorubicina, decitabina, dexormaplatino, dezaguanina, mesilato de dezaguanina, diazicuona, docetaxel, doxorubicina, hidrocloreto de doxorubicina, droloxifeno, citrato de droloxifeno, propionato de dromostanolona, duazomicina, edatrexato, hidrocloreto de eflornitina, elsamitricina, enloplatino, anpromato, epipropidina, hidrocloreto de epirubicina, erbolozola, hidrocloreto de esorubicina, estramustina, fosfato sódico de estramustina, etanidazol, etoposida, fosfato de etoposida, etoprina, hidrocloreto de fadrozola, fazarabina, fenretinida, floxuridina, fosfato de fludarabina, fluororacil, flurocitabina, fosquidona, fostriecina sódica, gemcitabina, hidrocloreto de gemcitabina, hidroxiurea, hidrocloreto de idarubicina, ifosfamida, ilmofosina, interleucina II (incluyendo interleucina II recombinante, o IL2), interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, interferon alfa-n1, interferon alfa-n3, interferon beta-I a, interferon gamma-I b, iproplatino, hidrocloreto de irinotecano, acetato de lanreotida; letrozola; acetato de leuprolida; hidrocloreto de liarozola, lometrexol sódico; lomustina; hidrocloreto de losoxantrona; masoprocola; maitansina; hidrocloreto de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalana; menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexatosódico; metoprina; meturedopa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogillina; mitomakina; mitomicina; mitospere; mitotana; hidrocloreto de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazola; nogalamicina; ormaplatino; oxisurano; paclitaxel; pegaspargasa; peliomycin; pentamustina; sulfato de peplomycin; perfosfamida; pipobromano; pipo sulfano; hidrocloreto de piroxantrona; plicamicina; plomestana; porfimer sódico; porfomicina; prednimustina; hidrocloreto de procarbazine; puromycin; hidrocloreto de puromycin; pirazofurina; riboprina; roglitimida; safingol; hidrocloreto de safingol; semustina; simtrazeno; sparfosate sódico; sparsomicina; hidrocloreto de spirogermanio; spiromustina; spiroplatino; streptonigrina; streptozocina; sulofenuro; talisomicina; tecogalan sódico; tegafur; hidrocloreto de teloxantrone; temoporfina; teniposida; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolone; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; hidrocloreto de tubulozola; mostaza uracila; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesine; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozola; zeniplatino; zinostatina; hidrocloreto de zorubicina.

[0108] Otros medicamentos anti-cáncer que pueden usarse incluyen, pero no se limitan a, 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etniluracil; abiratorona; aclarubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleucina; antagonistasa TODOS-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina; anagrelida; anastrozola; andrografolida; inhibidores de angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína-1 morfogenética anti-dorsalizante; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antinaoplastona; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores de gen de apoptosis; reguladores de apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina deaminasa; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasatron; azatoxina; azatirosina; derivados de baccatin III; balanol;

batimastato; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilstaurosporina; derivados de beta lactam; beta-
 aletina; betaclamicina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilsperrina;
 bisnafida; bistratono A; bizelesina; breflato; bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C;
 5 derivados de camptotecina; canaripox IL-2; capecitabina; carboxamida-amino-triazola; carboxiamidotriazola; CaRest
 M3; CARN 700; inhibidor derivado de cartílago; carzelesina; inhibidores de cinasa de caseína (ICOS);
 castanospermina; cecropina B; cetorelix; clorinas; sulfonamida cloroquinoxalina; cicaprost; cis-porfirina; cladribina;
 análogos de clomifeno; clotrimazola; collismicina A; collismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina;
 10 conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A;
 ciclopentantraquinonas; cicloplatam; cipemicina; ocfosfato de citarabina; factor citolítico; citostatina; dacliximab;
 decitabina; dehidrodidemina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamil; diaziquna;
 didemina B; didox; dietilnorspermina; dihidro-5- azacidina; dihidrotaxol, 9-; dioxamicina; difenil spirofina;
 docetaxel; docosanol; dolasatron; doxifluridina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebseleno; ecomustina;
 edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina; episteride; análogo de estramustina; estrogen
 15 agonistas; antagonistas de estrógeno; etanidazola; fosfato de etoposida; exemestano; fadrozola; fazarabina;
 fenretinide; filgrastim; finasteride; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; hidrociluro de
 fluorodaunorubicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina de gadolinio; nitrato de galio;
 galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatona; hepsulfam; heregulina;
 bisacetamida de hexametileno; hipericina; ácido ibandrónico; idarubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofosina;
 20 ilomastat; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunostimulantes; inhibidor del receptor del factor-1 de
 crecimiento tipo insulina; agonistas de interferón; interferones; interleucinas; iobengano; iododoxorubicina;
 ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazola; isohomohalicondrina B; itasatrona; jasplakinolida; kahalalida F;
 triacetato de lamelarina-N; lanreotida; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinano; leptostatina; letrozola; factor de
 inhibición de leucemia; interferón de leucocito alfa; leuprolide+estrógeno+progesterona; leuprorelina; levamisola;
 25 liarozola; análogo de poliamina lineal; péptido disacárido lipofílico; compuestos de platino lipofílico; lissoclinamida 7;
 lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; lovastatina; loxoribina; lurtotecan; texafirina de lutecio;
 lisofillina; péptidos líticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilisina;
 inhibidores de matriz metaloproteínaasa; menogaril; merbarona; meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor
 MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; ARN de doble cadena desajustada; mitoguzona; mitolactol; análogos de
 mitomicina; mitonafida; factor de crecimiento de fibroblasto de mitotoxina -saporina; mitoxantrona; mofaroteno;
 30 molgramostim; anticuerpo monoclonal, gonadotrofina coriónica humana; lípido A monofosforilo +micobacterium de
 pared celular de sk; mopidamol; inhibidor de gen de resistencia a múltiples medicamentos; terapia basada en
 supresor1 de tumores múltiples; agente mostaza anti-cáncer; micaperóxido B; extracto de pared celular
 micobacteriana; miriaporona; N-acetildinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelian; nagrestip;
 35 naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorubicina; ácido neridrónico;
 endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores óxido nítrico; antioxidante nítrido; nitrulina; O6-
 benzilguanina; octredótido; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetron; oracina; inductor oral de citocina;
 ormaplatino; osatorona; oxaliplatino; oxaunomicina; paclitaxel; análogos de paclitaxel; derivados de paclitaxel;
 palauamina; palmitoilrhizoxina; ácido pamidrónico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa;
 40 peldesina; polisulfato de pentosano sódico; pentostatina; pentozola; perflubron; perfosfamida; alcohol perillilo;
 fenazinomicina; fenilacetato; inhibidores de fosfatasa; picibanilo; hidrociluro de pilocarpina; pirarubicina; piritrexim;
 placetina A; placetina B; inhibidor del activador de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino;
 complejo platino-triamina; porfímero sódico; porfiromicina; prednisona; propil bis-acridona; prostaglandina J2;
 inhibidores de proteasoma; modulador inmune basado en proteína A; inhibidor de proteína kinasa C; inhibidores de
 45 proteína kinasa C, microalgal; inhibidores de proteína tirosina fosfatasa; inhibidores de nucleósido fosforilasa de
 purina; purpurinas; pirazoloacridina; polioxietileno conjugado de hemoglobina piridoxilada; antagonistas raf;
 raititreded; ramosetron; inhibidores ras farnesilo de proteína transferasa; inhibidores ras; inhibidor ras-GAP;
 reteliptina demetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; RII retinamida; roglétimida; rohitukina;
 romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxil; safingol; saintopina; SarCNU; sarcofitol A; sargramostim; miméticos de
 Sdi 1; semustina; inhibidor 1 derivado de senescencia; oligonucleótidos sentido; inhibidores de transducción de
 50 señal; moduladores de transducción de señal; proteína ligante de antígeno de cadena simple; sizofirano;
 sobuzoxano; borocaptato sódico; fenilacetato sódico; solverol; proteína ligante de somatomedin; sonarina; ácido
 sparfósico; spicamicina D; spirofina; splenopentina; spongistatina 1; squalamina; inhibidor de célula madre;
 inhibidores de división de célula madre; stipiamida; inhibidores de stromelina; sulfinosina; antagonista de péptido
 intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramina; swainsonina; glicosaminoglicanos sintéticos; talimustina;
 55 metodida de tamoxifen; tauromustina; tazaroteno; tecogalan sódico; tegafur; telurapirilio; inhibidores de telomerasa;
 temporfina; temozolomida; teniposida; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoietina;
 trombopoietina mimético; timalfasina; agonista de receptor de timopietina; timotrinano; hormona estimuladora del
 tiroides; etiopurpurina de etilo estaño; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor totipotente
 de célula madre; inhibidores de traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron;
 60 turosterida; inhibidores de tirosina kinasa; tirfostinas; inhibidores UBC; ubenimex; inhibidor de factor de crecimiento
 derivado de seno urogenital; antagonistas de receptor urokinasa; vaporetida; variolina B; sistema vector, terapia
 génica de eritrocito; velaresol; veramina; verdinas; vertepoifina; vinorelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozola; zanoterona;
 zeniplatino; zilascorb; y estimalámero de zinostatina.

5 [0109] Un agente anti-cáncer puede ser un agente quimioterapéutico que incluye pero no está limitado a, los siguientes grupos de compuestos: los antibióticos citotóxicos, antimetabolitos, agentes anti-mitóticos, agentes alquilantes, compuestos de platino, compuestos de arsénico, inhibidores de la topoisomerasa ADN, taxanos, análogos de nucleósidos, alcaloides de plantas, y toxinas y derivados sintéticos de los mismos. La tabla 1 lista compuestos ejemplares de los grupos:

TABLA 1

	<u>Agentes alquilantes</u>	
	Mostazas de Nitrógeno	Ciclofosfamida
10		Ifosfamida
		Trafosfamida
		Clorambucil
	Nitrosoureas:	Carmustina (BCNU)
		Lomustina (CCNU)
15	Alquilsulfonatos:	Busulfano
		Treosulfano
	Triazenos:	Dacarbazina
	Compuestos con Platino:	Cisplatino
20		Carboplatino
		Aroplatino
		Oxaliplatino
	<u>Alcaloides de Plantas</u>	
	Alcaloides Vinca:	Vincristina
		Vinblastina
25		Vindesina
		Vinorelbina
	Taxoides:	Paclitaxel
		Docetaxol
	<u>Inhibidores DNA Topoisomerasa</u>	
30	Epipodofilinas:	Etopósido
		Tenipósido
		Topotecan
		9-aminocamptotecina
		Camptotecina
		Crisnatol
35	Mitomicinas:	Mitomicina C
	<u>Anti-folatos:</u>	
	Inhibidores DHFR:	Metotrexato

		Trimetrexato
	Inhibidores dehidrogenasa IMP:	Ácido Micofenólico
		Tiazofurina
		Ribavirina
5		EICAR
	Inhibidores reductasa Ribonuclótida:Hidroxiurea	
		Deferoxamina
	<u>Análogos de Pirimidina:</u>	
	Análogos de Uracil:	5-Fluorouracil
10		Floxuridina
		Doxifluridina
		Ratitrexed
	Análogos de Citosina:	Citarabina (ara C)
		Arabinósido de Citosina
15		Fludarabina
	<u>Análogos de Purina:</u>	Mercaptopurina
		Tioguanina
	Antimetabolitos ADN:	3-HP
		2'-deoxi-5-fluorouridina
20		5-HP
		alfa-TGDR
		glicinato de afidicolina
		ara-C
		5-aza-2'-deoxicitidina
25		beta-TGDR
		ciclocitidina
		guanazola
		glicodialdehido de inosina
		macebecina II
30		pirazoloimidazola
	<u>Análogos de Pirimidina:</u>	
	<u>Agentes Antimitóticos:</u>	alocolchicina
		Halichondrina B
		colchicina
35		derivado de colchicina
		dolstatina 10

		maitansina
		rizoxina
		tiocolchicina
		tritol cisteína
5	<u>Otros:</u>	
	Inhibidores de Isoprenilación:	
	Neurotoxinas Dopaminérgicas:	lón 1-metil-4-fenilpiridinom
	Inhibidores de ciclo celular:	Staurosporina
	Actinomicinas:	Actinomicina D
10		Dactinomicina
	Bleomicinas:	Bleomicina A2
		Bleomicina B2
		Peplomycin
	Antraciclinas:	Daunorubicina
15		Doxorubicina (adriamicina)
		Idarubicina
		Epirubicina
		Pirarubicina
		Zorubicina
20		Mitoxantrona
	Inhibidores de MDR:	Verapamil
	Inhibidores de Ca ²⁺ -ATPasa:	Tapsigargina
25	[0110] Las composiciones que comprenden uno o más agentes quimioterapéuticos (por ejemplo, FLAG, CHOP) también están contempladas en la presente invención. FLAG comprende fludarabina, arabinósido de citosina (Ara-C) y G-CSF. CHOP comprende ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona. Cada una de las listas anteriores es un ejemplo, y no está destinada a ser limitante.	
	[0111] De acuerdo con la presente divulgación, el cáncer de mama puede ser tratado con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con 5-fluorouracilo, cisplatino, docetaxel, doxorubicina, Herceptin®, gemcitabina, IL-2, paclitaxel, y / o VP-16 (etopósido).	
30	[0112] El cáncer de próstata puede ser tratado con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con paclitaxel, docetaxel, mitoxantrona, y / o un antagonista del receptor de andrógenos (por ejemplo, flutamida).	
35	[0113] La leucemia puede ser tratada con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con fludarabina, arabinósido de citosina, gemtuzumab (MYLOTARG), daunorubicina, metotrexato, vincristina, 6-mercaptopurina, idarubicina, mitoxantrona, etopósido, prednisona, asparaginasa, y / o ciclofosfamida. Como otro ejemplo, el mieloma puede ser tratado con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con dexametasona. Preferiblemente, la leucemia es la leucemia mieloide crónica (LMC), los complejos HSP comprende complejos HSP70-péptido, y la modalidad terapéutica es el mesilato de imatinib o Gleevec™.	
40	[0114] El melanoma puede ser tratado con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con dacarbazina.	

[0115] El cáncer colorrectal se puede tratar con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con irinotecan.

[0116] El cáncer de pulmón se puede tratar con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con paclitaxel, docetaxel, etopósido y / o cisplatino.

5 [0117] El linfoma no-Hodgkin se puede tratar con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con ciclofosfamida, CHOP, etopósido, bleomicina, mitoxantrona y / o cisplatino.

[0118] El cáncer gástrico puede ser tratado con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con cisplatino.

10 [0119] El cáncer de páncreas se puede tratar con una composición farmacéutica que comprende complejos de la invención en combinación con gemcitabina.

[0120] De acuerdo con la presente descripción, los complejos de la invención se pueden administrar antes, después, o simultáneamente con agente(s) anti-cáncer, para la prevención o tratamiento del cáncer. Dependiendo del tipo de cáncer, el historial del sujeto y su condición, y el agente(s) anti-cáncer de elección, el uso de los complejos de la invención puede ser coordinado con la dosis y el momento de la quimioterapia.

15 [0121] El uso de los complejos de la invención se puede añadir a un régimen de quimioterapia. En una realización, el agente quimioterápico es gemcitabina a una dosis que va desde 100 hasta 1000 mg/m²/ciclo. En una realización, el agente quimioterápico es dacarbazina en dosis que van desde 200 hasta 4000 mg/m²/ ciclo. Preferiblemente, la dosis de dacarbazina oscila desde 700 hasta 1000 mg/m²/ ciclo. En otra realización, el agente de quimioterapia es fludarabina en dosis que van desde 25 hasta 50 mg/m²/ ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es arabinósido de citosina (Ara-C) en dosis que van desde 200 hasta 2000 mg/m²/ ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es docetaxel a una dosis de 1,5 a 7,5 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico paclitaxel es a una dosis de 5 a 15 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es cisplatino en dosis entre 5 y 20 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente de quimioterapia es 5-fluorouracilo en dosis que van de 5 a 20 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico doxorubicina es una dosis de 2 a 8 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es epipodofilotoxina a una dosis de entre 40 y 160 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es ciclofosfamida a una dosis de 50 a 200 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es irinotecan en dosis de 50 a 75, 75-100, 100-125, o mg/m²/ ciclo 125-150. En otra realización, el agente quimioterápico es vinblastina en dosis que van desde 3,7 hasta 5,4, 5,5 a 7,4, 7,5 a 11, o mg/m²/ ciclo 11-18.5. En otra realización, el agente de quimioterapia es vincristina a una dosis de 0,7 a 1.4, o 1.5 a 2 mg / m² / ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es el metotrexato en dosis que van desde 3.3 hasta 5, 5 a 10, 10 a 100, o 100-1000 mg/m²/ ciclo.

20 [0122] También preferiblemente divulgado aquí es el uso de dosis bajas de agentes quimioterápicos cuando se administran como parte del régimen de terapia combinada. Por ejemplo, el tratamiento inicial con los complejos de la invención aumenta la sensibilidad de un tumor a la estimulación subsiguiente con una dosis del agente quimioterápico, cuya dosis está cerca o por debajo del rango inferior de las dosis cuando el agente de quimioterapia se administra sin complejos de la invención.

25 [0123] En una realización de la divulgación, complejos de la invención y una dosis baja (por ejemplo, 6 a 60 mg/m²/día o menos) de docetaxel se administró a un paciente de cáncer. En otra realización, complejos aquí divulgados y una dosis baja (por ejemplo, 10 a 135 mg/m²/día o menos) de paclitaxel se administran a un paciente con cáncer. En otra realización, complejos de la invención y una dosis baja (por ejemplo, 2.5 a 25 mg/m²/día o menos) de fludarabina se administran a un paciente con cáncer. En otra realización, complejos de la invención y una dosis baja (por ejemplo, 0,5 a 1,5 g/m²/día o menos) de arabinósido de citosina (Ara-C) se administra a un paciente con cáncer. En otra modalidad, el agente quimioterápico es gemcitabina en dosis de 10-100 mg/m²/ ciclo. En otra realización, el agente de quimioterapia es cisplatino, por ejemplo, PLATTNOL o PLATINOL-AQ (Bristol Myers), a una dosis de 5 a 10, 10 a 20, 20 a 40, o 40 a 75 mg/m²/ ciclo. En otra realización, una dosis de cisplatino que va desde 7.5 hasta 75 mg/m²/ ciclo se administra a un paciente con cáncer de ovario. En otra realización, una dosis de cisplatino que va desde 5 hasta 50 mg/m²/ ciclo se administra a un paciente con cáncer de vejiga. En otra realización, el agente de quimioterapia es carboplatino, por ejemplo, PARAPLATIN (Bristol Myers), a una dosis de 2 a 4, 4-8, 8-16, 16-35, o 35-75 mg/m²/ es. En otra realización, una dosis de carboplatino que va desde 7.5 hasta 75 mg/m²/ es se administra a un paciente con cáncer de ovario. En otra realización, una dosis de carboplatino que va desde 5 hasta 50 mg/m²/ es se administra a un paciente con cáncer de vejiga. En otra realización, una dosis de carboplatino que va desde 2 hasta 20 mg/m²/ es se administra a un paciente con cáncer testicular. En otra realización, el agente quimioterápico es docetaxel, por ejemplo, TAXOTERE (Rhône Poulenc Rorer) en dosis que van de 6 a 10, 10 a 30, o 30 a 60 mg/m²/ciclo. En otra realización, el agente quimioterápico es paclitaxel, por ejemplo, TAXOL (Bristol Myers Squibb), a una dosis de 10 a 20, 20 a 40, 40 a 70, o 70 a 135 mg / kg / ciclo. En otra realización, el agente de quimioterapia es 5-fluorouracilo en dosis de 0,5 a 5 mg / kg / ciclo. En otra realización, el

agente quimioterapéutico es doxorubicina, por ejemplo, ADRIAMICINA (Farmacia & Upjohn), DOXIL (Alza), RUBEX (Bristol Myers Squibb), a una dosis de 2 a 4, 4-8, 8-15, 15 a 30, o 30 a 60 mg / kg / ciclo.

5 [0124] En otra realización, los complejos de la invención se administra en combinación con uno o más agentes antiangiogénicos, que incluye, pero no limitado a, angiostatina, talidomida, kringle 5, endostatina, Serpin (inhibidor de la proteasa serina) anti-trombina, fragmentos proteolíticos 29 kDa N-terminal y un 40 kDa C-terminal de fibronectina, fragmento proteolítico 16 kDa de la prolactina, fragmento proteolítico 7,8 kDa del factor plaquetario-4, un péptido de 13 aminoácidos que corresponde a un fragmento del factor plaquetario-4 (Maione et al., 1990, Cancer Res. 51:2077-2083), un péptido de 14 aminoácidos que corresponde a un fragmento de colágeno y (Tolma et al., 1993, J. Cell Biol. 122:497-511), un péptido de 19 aminoácidos que corresponde a un fragmento de trombospondina y (Tolsma et al., 1993, J. Cell Biol. 122:497-511), un péptido de 20 aminoácidos que corresponde a un fragmento de SPARC (Sage et al., 1995, J. Cell. Biochem. 57:1329-1334), o cualesquiera fragmentos, elementos de familia, o variantes de los mismos, incluyendo sus sales farmacéuticamente aceptables.

15 [0125] Otros péptidos que inhiben la angiogénesis y corresponden a fragmentos de laminina, fibronectina, procolágeno, y EGF también se han descrito (véase, por ejemplo, Cao, 1998, Prog Mol Subcel Biol. 20:161-176). Los anticuerpos monoclonales y pentapéptidos cíclicos, que bloquean ciertas integrinas que se unen a proteínas RGD (es decir, poseen el motivo péptido Arg-Gly-Asp), se ha demostrado que tienen actividades anti-vascularización (Brooks et al, 1994, Science 264:569. - 571; Hammes et al, 1996, Nature Medicine 2:529-533).. Por otra parte, la inhibición del receptor activador del plasminógeno uroquinasa por antagonistas de los receptores inhibe la angiogénesis, el crecimiento tumoral y la metástasis (Min et al, 1996, Cancer Res. 56: 2428-33; Crowley et al, 1993, Proc Natl Acad Sci 90:... 5,021 a 25). El uso de tales agentes anti-angiogénicos en combinación con los complejos también se divulga aquí.

25 [0126] En una realización de la divulgación, los complejos de la invención se utilizan en asociación con un tratamiento hormonal. Tratamientos terapéuticos hormonales incluyen agonistas hormonales, antagonistas hormonales (por ejemplo, flutamida, bicalutamida, tamoxifeno, raloxifeno, acetato de leuprolida (LUPRON), antagonistas de LH-RH), inhibidores de biosíntesis y de transformación de hormonas, y esteroides (por ejemplo, dexametasona, retinoides, deltoides, betametasona, cortisol, cortisona, prednisona, dehidrotestosterona, glucocorticoides, mineralocorticoides, estrógenos, testosterona, progestinas), derivados de vitamina A (por ejemplo, el ácido retinoico all-trans (ATRA)), análogos de la vitamina D3; antigestágenos (por ejemplo, mifepristona, onapristona), y antiandrógenos (por ejemplo, acetato de ciproterona).

30 [0127] En otra realización, complejos de la invención se utilizan en asociación con un programa de terapia génica en el tratamiento del cáncer. En una realización, la terapia génica con células recombinantes que secretan interleuquina-2 se administra en combinación con complejos de la invención para prevenir o tratar el cáncer, especialmente cáncer de mama (Véase, por ejemplo, Deshmukh et al., 2001, J. Neurosurg. 94:287 -92). En otras realizaciones, la terapia génica se lleva a cabo con el uso de compuestos polinucleótidos, tales como, pero no se limitan a polinucleótidos antisentido, ribozimas, moléculas de ARN de interferencia, polinucleótidos triple hélice y similares, donde la secuencia de nucleótidos de estos compuestos se relacionan con secuencias de nucleótidos de ADN y / o ARN de genes que están relacionados con la iniciación, progresión y / o patología de un tumor o cáncer. Por ejemplo, muchos son oncogenes, genes del factor de crecimiento, genes del receptor del factor de crecimiento, genes del ciclo celular, genes de reparación del ADN, y son bien conocidos en la técnica.

40 [0128] En otra realización, complejos de la invención se administran en combinación con un régimen de terapia de radiación. Para el tratamiento de radiación, la radiación puede ser rayos gamma o rayos-X. Los métodos abarcan tratamiento del cáncer que abarca radioterapia, como la radioterapia de haz externo, la implantación intersticial de radioisótopos (I-125, paladio, iridio), radioisótopos como el estroncio-89, radioterapia torácica, la radioterapia intraperitoneal P-32, y / o terapia de radiación total abdominal y pélvica. Para una visión general de la radioterapia, consulte Hellman, Capítulo 16: Principios de Gestión de cáncer. Radioterapia, 6^a edición, 2001, DeVita et al, eds, JB Lippencott Company, Filadelfia. Preferiblemente, la radioterapia se administra en forma de radiación de haz externo o teleterapia en donde la radiación es dirigida desde un origen remoto.

45 [0129] Preferiblemente, el tratamiento de radiación se administra como terapia interna o braquiterapia en donde una fuente radiactiva se coloca dentro del cuerpo cerca de las células de cáncer o un tumor. También abarca el uso combinado de complejos de la invención con terapia fotodinámica, que comprende la administración de fotosensibilizadores, como hematoporfirina y sus derivados, Vertoporfín (BPD-MA), ftalocianina, PC4 fotosensibilizador, desmetoxi-hipocrelina y 2BA-2-DMHA .

55 [0130] En varias realizaciones, complejos de la invención se administran en combinación con al menos un agente de quimioterapia, durante un ciclo de tratamiento corto a un paciente de cáncer para tratar el cáncer. La duración del tratamiento con el agente quimioterapéutico puede variar según el agente especial terapéutica de cáncer empleado. La presente divulgación también contempla la administración discontinua o dosis diaria dividida en varias administraciones parciales. Un tiempo de tratamiento apropiado para un agente terapéutico en el cáncer será apreciado por el experto en la materia, y la divulgación contempla la evaluación continua de las pautas de

tratamiento óptimo para cada agente terapéutico del cáncer. La presente divulgación contempla al menos un ciclo, preferiblemente más de un ciclo durante el cual se administra una simple terapia o secuencia de terapia. Un plazo adecuado de tiempo para un ciclo será apreciado por el experto en la materia, así como el número total de ciclos, y el intervalo entre los ciclos.

- 5 [0131] En otra realización, complejos de la invención se utilizan en combinación con compuestos que mejoran los síntomas del cáncer (por ejemplo, pero no limitado a dolor) y los efectos secundarios producidos por los complejos de la invención (por ejemplo, pero no limitado a los síntomas de tipo gripe, fiebre, etc.) En consecuencia, muchos de los compuestos conocidos para reducir el dolor, síntomas de tipo gripe y fiebre pueden ser utilizados en combinación o en mezcla con complejos de la invención. Tales compuestos incluyen analgésicos (por ejemplo, acetaminofeno),
10 descongestivos (por ejemplo, pseudoefedrina), antihistamínicos (por ejemplo, maleato de clorfeniramina) y supresores de la tos (por ejemplo, el dextrometorfano).

5.5. ENFERMEDADES INFECCIOSAS OBJETIVO

- 15 [0132] Las enfermedades infecciosas que pueden tratarse o prevenirse con los métodos descritos en este documento son causadas por agentes infecciosos, incluyendo pero no limitados a, virus, bacterias, hongos, protozoos, helmintos y parásitos. La divulgación no se limita a tratar o prevenir enfermedades infecciosas causadas por patógenos intracelulares o extracelulares. La terapia combinada comprende, además de la administración de las composiciones farmacéuticas de la invención, la utilización de una o más modalidades que ayudan en la prevención o tratamiento de enfermedades infecciosas, cuyas modalidades incluyen, pero no se limitan a, antibióticos, antivirales, compuestos antiprotozoarios, compuestos antifúngicos, y antihelmínticos. Otras modalidades de
20 tratamiento que se pueden utilizar para tratar o prevenir enfermedades infecciosas incluyen inmunoterapia, polinucleótidos, anticuerpos, citocinas, hormonas y como se describe anteriormente.

- [0133] Virus infecciosos de ambos vertebrados humanos y no humanos, incluyen retrovirus, virus ARN y virus de ADN. Algunos ejemplos de virus que se han encontrado en seres humanos incluyen pero no están limitados a:
25 Retroviridae (por ejemplo, los virus de la inmunodeficiencia humana, tal como el VIH-1 (también conocido como HTLV-III, LAV o HTLV-III/LAV, o el VIH-III; y otros aislados, como el VIH-LP; Picornaviridae (por ejemplo, los virus de la poliomielitis, virus de la hepatitis A, enterovirus, virus Cocksackie humanos, rinovirus, echovirus); Calciviridae (por ejemplo, cepas que causan la gastroenteritis); Togaviridae (por ejemplo, virus de la encefalitis equina, virus de la rubéola) ; Flaviridae (por ejemplo, virus del dengue, virus de encefalitis, virus de la fiebre amarilla); Coronaviridae (coronavirus por ejemplo); Rhabdoviridae (por ejemplo, virus de la estomatitis vesicular, virus de la rabia); Filoviridae (por ejemplo, virus de ébola); Paramyxoviridae (por ejemplo, parainfluenza virus, virus de la parotiditis, virus del sarampión , virus respiratorio sincitial); Orthomyxoviridae (virus de la gripe por ejemplo); Bungaviridae (por ejemplo, virus Hantaan, virus Bunga, phlebovirus y virus Nairo); viridae Arena (virus de la fiebre hemorrágica); Reoviridae (por ejemplo, reovirus, orbivirus y rotavirus); Bimaviridae; Hepadnaviridae (virus de la hepatitis B); Parvovirida (parvovirus); Papovaviridae (papiloma virus, polioma virus); Adenoviridae (la mayoría de los adenovirus);
35 Herpesviridae (virus del herpes simple (HSV) 1 y 2, el virus de la varicela zoster, el citomegalovirus (CMV), virus del herpes; Poxviridae (virus de la viruela, virus vaccinia, poxvirus), y Iridoviridae (por ejemplo, el virus de la peste porcina africana), y los virus no clasificados (por ejemplo, los agentes etiológicos de las encefalopatías espongiiformes, el agente de la hepatitis delta (se piensa que es un satélite defectuoso del virus de la hepatitis B), los agentes de hepatitis no-A, no-B (clase 1 = transmitidos internamente, clase 2 = transmisión parenteral (por ejemplo la hepatitis C), virus Norwalk y relacionados, y astrovirus).
40

- [0134] Los retrovirus que se contemplan incluyen retrovirus simple y retrovirus complejos. Los retrovirus simples incluyen los subgrupos de los retrovirus de tipo B, los retrovirus de tipo C y los retrovirus de tipo D. Un ejemplo de un retrovirus de tipo B es el virus del tumor mamario del ratón (MMTV). Los retrovirus tipo C incluyen subgrupos de tipo C del grupo A (incluyendo el virus del sarcoma de Rous (RSV), virus de la leucemia aviar (ALV), y virus de mieloblastosis aviar (AMV)) y el grupo C de tipo B (incluido el virus de la leucemia de ratón (MLV) , el virus de la leucemia felina (FeLV), virus del sarcoma de ratón (MSV), el virus de la leucemia mono gibón (GALV), virus de la necrosis del bazo (SNV), el virus de reticuloendoteliosis (RV) y el virus del sarcoma de simios (SSV)). Los retrovirus de tipo D incluyen el virus de mono Mason-Pfizer (MPMV) y el retrovirus de simio de tipo 1 (SRV-1). Los retrovirus complejos incluyen los subgrupos de lentivirus, virus de la leucemia de células T y el virus espumoso. Los lentivirus incluyen el VIH-1, pero también incluyen el VIH-2, SIV, el virus Visna, virus de la inmunodeficiencia felina (FIV), y el virus de la anemia infecciosa equina (virus de la AIE). El virus de la leucemia de células T incluye HTLV-1, HTLV-II, el virus de leucemia de células T del simio (STLV), y el virus de la leucemia bovina (BLV). El virus espumoso incluye virus espumoso humano (VAF), virus espumoso del simio (SFV) y el virus espumoso bovino (BFV).
45
50

- [0135] Ejemplos de virus de ARN que son antígenos en los animales vertebrados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: los miembros de la familia Reoviridae, incluyendo el género Orthoreovirus (serotipos múltiples de ambos retrovirus de mamíferos y aves), del género Orbivirus (virus de lengua azul, el virus Eugenangee, el virus de Kemerovo, virus de la peste equina y el virus de Fiebre por Garrapatas del Colorado), el género Rotavirus (rotavirus humano, el virus de diarrea de becerro de Nebraska, el rotavirus de ratón, el rotavirus de simio, el rotavirus bovino u ovino, el rotavirus aviar), la familia Picornaviridae, incluido el género Enterovirus (poliovirus, virus Cocksackie A y B,
55

virus citopático entérico humano huérfano (ECHO), virus de hepatitis A, enterovirus de simio, virus de encefalomiелitis de ratón (ME), poliovirus muris, enterovirus bovino, enterovirus porcino, el género *Cardiovirus* (virus de la encefalomiocarditis (EMC), *Mengovirus*), el género *rinovirus* (*rinovirus* humanos, incluidos al menos 113 subtipos, otros *rinovirus*), el género *Aphovirus* (*Fiebre Aftosa* (VFA), la familia *Calciviridae*, incluyendo exantema vesicular del virus porcino, virus del león marino San Miguel, *picornavirus* felino y virus *Norwalk*, la familia *Togaviridae*, incluyendo el género *alfavirus* (virus de la encefalitis equina oriental, el virus *Semliki Forest*, el virus de Sindbis, el virus de *Chikungunya*, virus *O'Nyong-Nyong*, el virus del río Ross, virus de encefalitis equina venezolana, el virus de la encefalitis equina occidental), el género *Flavivirus* (virus de mosquito de la fiebre amarilla, virus del dengue, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis de St. Louis, virus de la encefalitis del Valle Murray, virus del Nilo Occidental, el virus *Kunjin*, virus de Europa Central transmitidos por garrapatas, virus de Extremo Oriente transmitidos por garrapata, virus de la selva de *Kyasanur*, virus *Louping III*, virus *Powassan*, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk), el género *Rubivirus* (virus de la rubéola), el género *Pestivirus* (virus de la enfermedad de la mucosa, el virus del cólera porcino, virus de la Enfermedad Border), la familia *Bunyaviridae* , incluyendo el género *Bunyavirus* (virus *Bunyamwera* y relacionados, virus del grupo encefalitis de California), el género *Phlebovirus* (virus de fiebre *Sandfly* siciliano, virus de la fiebre del *Rift Valley*), el género *Nairovirus* (*Virus* de fiebre hemorrágica *Crimea-Congo*, virus de la enfermedad ovina de *Nairobi*), y el género *Uukuvirus* (virus *Uukuniemi* y relacionados), la familia *Orthomyxoviridae*, incluyendo el género de virus de la influenza (virus de la gripe tipo A, muchos subtipos humanos), virus de la gripe porcina, y virus de la gripe aviar y equina, influenza tipo B (muchos subtipos humanos), y la influenza de tipo C (posible género separado), la familia *Paramyxoviridae*, incluyendo el género *Paramyxovirus* (virus de parainfluenza tipo 1, virus de *Sendai*, virus hemadsorción, los tipos de virus de la parainfluenza 2 a 5, virus de enfermedad de *Newcastle*, virus de las *paperas*), el género *Morbillivirus* (virus del sarampión, virus de panencefalitis esclerosante subaguda, virus del moquillo, virus de la peste bovina), el género *Pneumovirus* (virus respiratorio sincitial (VRS), virus respiratorio sincitial bovino y virus de la neumonía de ratones) ; virus de bosques, virus de *Sindbis*, virus de *Chikungunya*, virus *O'Nyong-Nyong*, el virus de *Ross River*, el virus de la encefalitis equina venezolana, virus de la encefalitis equina occidental), el género *Flavivirus* (virus de mosquito de la fiebre amarilla, virus del dengue, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis de St. Louis, virus de la encefalitis del Valle Murray, virus del Nilo Occidental, el virus *Kunjin*, virus de Europa Central transmitidos por garrapatas, virus de Extremo Oriente transmitidos por garrapata, virus de la selva de *Kyasanur*, virus *Louping III*, virus *Powassan*, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk), el género *Rubivirus* (virus de la rubéola), el género *Pestivirus* (virus de la enfermedad de la mucosa, el virus del cólera porcino, virus de la Enfermedad Border), la familia *Bunyaviridae* , incluyendo el género *Bunyavirus* (virus *Bunyamwera* y relacionados, virus del grupo encefalitis de California), el género *Phlebovirus* (virus de fiebre *Sandfly* siciliano, virus de la fiebre del *Rift Valley*), el género *Nairovirus* (*Virus* de fiebre hemorrágica *Crimea-Congo*, virus de la enfermedad ovina de *Nairobi*), y el género *Uukuvirus* (virus *Uukuniemi* y relacionados), la familia *Orthomyxoviridae*, incluyendo el género de virus de la influenza (virus de la gripe tipo A, muchos subtipos humanos), virus de la gripe porcina, y virus de la gripe aviar y equina, influenza tipo B (muchos subtipos humanos), y la influenza de tipo C (posible género separado), la familia *Paramyxoviridae*, incluyendo el género *Paramyxovirus* (virus de parainfluenza tipo 1, virus de *Sendai*, virus hemadsorción, los tipos de virus de la parainfluenza 2 a 5, virus de enfermedad de *Newcastle*, virus de las *paperas*), el género *Morbillivirus* (virus del sarampión, virus de panencefalitis esclerosante subaguda, virus del moquillo, virus de la peste bovina), el género *Pneumovirus* (virus respiratorio sincitial (VRS), virus respiratorio sincitial bovino y virus de la neumonía de ratones); la familia *Rhabdoviridae*, incluyendo el género *Vesiculovirus* (VSV), el virus *Chandipura*, virus *Flandes-Hart Park*), el género *Lyssavirus* (virus de la rabia), *rabdovirus* de peces , y dos probables *rabdovirus* (virus de *Marburg* y virus *Ébola*), la familia *Arenaviridae*, incluido el virus de la *coriomeningitis* linfocítica (LCM), complejo de virus *Tacaribe*, y virus de *Lassa*, la familia *Coronaviridae*, incluidos los virus de la *Bronquitis* Infecciosa (IBV), virus de la hepatitis del ratón, *coronavirus* entérico humano, y *peritonitis* infecciosa felina (*coronavirus* felino).

[0136] Virus de ADN ilustrativos que son antígenos en los animales vertebrados incluyen, pero no están limitados a: la familia *Poxviridae*, incluyendo el género *Orthopoxvirus* (*viruela* mayor, *viruela* menor, *viruela* del mono *vaccinia*, *viruela* bovina, *viruela* de búfalo, *viruela* de conejo, *Ectromelia*), el género *Leporipoxvirus* (*mixoma*, *fibroma*), el género *Avipoxvirus* (*viruela* aviar, otros virus de *viruela* aviar), el género *Capripoxvirus* (*viruela* ovina, *viruela* caprina), el género *Suipoxvirus* (*viruela* porcina), el género *parapoxvirus* (*virus* contagioso *dermatitis* postular, *pseudoviruela*, virus de la *estomatitis* papular bovina), la familia *Iridoviridae* (virus de la peste porcina africana, los virus de la rana 2 y 3, el virus *linfocistis* de peces); la familia *Herpesviridae*, incluyendo virus de herpes alfa (*herpes simplex* tipos 1 y 2, *varicela* *zoster*, el virus de aborto equino, virus equina del herpes 2 y 3, virus de *seudorabia*, virus de la *queratoconjuntivitis* infecciosa bovina, virus de *rinotraqueitis* infecciosa bovina, virus de *rinotraqueitis* felina, virus de *laringotraqueitis* infecciosa), virus de herpes beta (*citomegalovirus* humano y *citomegalovirus* de cerdos, monos y roedores), virus de herpes gamma (virus de *Epstein-Barr* (VEB), virus de la enfermedad de *Marek*, *Herpes* *saimirí*, *Herpesvirus* *áteles*, *Herpesvirus* *Sylvilagus*, virus del herpes del conejillo de indias, virus del tumor de *Lucke*), la familia *Adenoviridae*, incluyendo el género *Mastadenovirus* (subgrupos humanos A, B, C, D, E y no agrupados, *adenovirus* de simio (por lo menos 23 serotipos), *hepatitis* infecciosa canina, y *adenovirus* de ganado vacuno, cerdos, ovejas, ranas y muchas otras especies, el género *Aviadenovirus* (*adenovirus* aviar) y *adenovirus* no cultivables, la familia *Papoviridae*, incluyendo el género *Papillomavirus* (virus del *papiloma* humano, virus del *papiloma* bovino, *papiloma* virus del conejo *Shope*, y varios *papillomavirus* patógenos de otras especies), el género *poliomavirus* (*poliomavirus*, agente *vacuolizante* de simio (SV-40), agente *vacuolizante* de conejo (RKV), virus K,

virus BK, virus JC, y otros poliovirus de primates como el virus del papiloma linfotrópico); la familia Parvoviridae incluyendo el género de virus adeno-asociados, el género Parvovirus (virus de la panleucopenia felina, parvovirus bovina, parvovirus canino, virus de la enfermedad del visón de las Aleutianas, etc.) Por último, los virus de ADN pueden contener virus que no se ajustan a las familias anteriores como los virus Kuru y de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, y agentes infecciosos neuropáticos crónicos.

5 [0137] Muchos ejemplos de compuestos antivirales que se pueden utilizar en combinación con los complejos de la invención son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a: rifampicina, inhibidores de la transcriptasa inversa de nucleósidos (por ejemplo, el AZT, ddI, ddC, 3TC, d4T), inhibidores de la transcriptasa inversa de no nucleósidos (por ejemplo, efavirenz, nevirapina), inhibidores de la proteasa (por ejemplo, aprenavir, indinavir, ritonavir y saquinavir), idoxuridina, cidofovir, aciclovir, ganciclovir, amantadina zanamivir, y palivizumab. Otros ejemplos de agentes anti-virales incluyen, pero no se limitan a Acemannan; aciclovir; Aciclovir sódico; adefovir; Alovudina; Alvircept Sudotox; Clorhidrato de amantadina; Aranotin; Arildona; Ateviridina mesilato; Avridine; cidofovir; Cipamfylline; clorhidrato de citarabina; Mesilato de delavirdina; desciclovir, didanosina; Disoxaril; Edoxudina; Enviradene; Enviroxime; famciclovir; clorhidrato de famotina; Fiacitabina; Fialuridina; Fosarilato; Foscamet sódico, Fosfonet sódico; ganciclovir; ganciclovir sódico; idoxuridina; Ketoxal; Lamivudina; Lobucavir; clorhidrato de memotina; Methisazone; nevirapina, penciclovir, Pirodavidir, ribavirina, clorhidrato de rimantadina; clorhidrato de somantadine; mesilato de saquinavir Sorivudina; Statolon; clorhidrato de Tilorone; estavudina, trifluridina, clorhidrato de valaciclovir; Vidarabina; Vidarabina fosfato, fosfato sódico de Vidarabina; Viroxime; Zalcitabina; zidovudina; Ziniviroxime.

20 [0138] Las infecciones o enfermedades bacterianas que pueden tratarse o prevenirse con los métodos descritos en este documento son causadas por bacterias, incluyendo pero no limitado a, bacterias que tienen una etapa intracelular en su ciclo de vida, tales como micobacterias (por ejemplo, Micobacterias tuberculosis, M bovis, M. avium, M. leprae, o M. africanum), rickettsia, micoplasma, clamidia y legionella. Otros ejemplos de infecciones bacterianas contempladas incluyen, pero no se limitan a, infecciones causadas por bacilos Gram positivos (por ejemplo, Listeria, bacilos, tales como Bacillus anthracis, especies de Erysipelothrix), bacilos Gram negativos (por ejemplo, Bartonella, Brucella, Campylobacter, Enterobacter, Escherichia, Francisella, Hemophilus, Klebsiella, Morganella, Proteus, Providencia, Pseudomonas, Salmonella, Serratia, Shigella, Vibrio, y especies de Yersinia), bacteria espiroqueta (por ejemplo, especies de Borrelia incluyendo Borrelia burgdorferi que causa la enfermedad de Lyme), bacterias anaeróbicas (por ejemplo, especies Actinomyces y Clostridium), bacterias cocales Gram positivas y negativas, especies de Enterococcus, especies de Streptococcus, especies de neumococo, especies de Staphylococcus, especies de Neisseria. Ejemplos específicos de bacterias infecciosas incluyen pero no están limitados a: Helicobacter pylori, Borelia burgdorferi, pneumophila Legionella, micobacteria tuberculosis, M. avium, M. intracellulare, M. kansaii, M. gordonae., Staphylococcus aureus, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, monocytogenes Listeria, Streptococcus pyogenes (estreptococos del grupo A), Streptococcus agalactiae (estreptococo del grupo B), Streptococcus viridans, Streptococcus faecalis, Streptococcus bovis, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Bacillus anthracis, Corynebacterium diphtheriae, Erysipelothrix rhusiopathiae, Clostridium perfringens, Clostridium tetani, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae, Pasturella multocida, Fusobacterium nucleatum, Streptobacillus moniliformis, Treponema pallidum, Treponema pertense, Leptospira, Rickettsia, y Actinomyces israeli.

40 [0139] Los agentes antibacterianos o los antibióticos que pueden utilizarse en combinación con los complejos de la invención incluyen pero no se limitan a: antibióticos aminoglucósidos (por ejemplo, apramicina, arbekacina, bambermicinas, butirosina, dibekacina, neomicina, neomicina, undecilinato, netilmicina, paromomicina, ribostamicina, sisomicina, y espectinomicina), antibióticos amfenicol (por ejemplo, florfenicol azidamfenicol, cloranfenicol y tianfenicol), antibióticos ansamicina (por ejemplo, rifamida y rifampicina), carbacefémicos (por ejemplo, loracarbef), carbapenémicos (por ejemplo, biapenem e imipenem), cefalosporinas (por ejemplo, cefactor, cefadroxilo, cefamandol, cefatrizina, cefazedona, cefozopran, cefpiramida cefpimizola, y cefpirome), cefamicinas (por ejemplo, cefbuperazona, cefmetazol y cefminox), monobactámicos (por ejemplo, aztreonam, carumonam y tigemonam), oxacefémicos (por ejemplo, flomoxef y moxalactam), penicilinas (por ejemplo, amdinocilina, pivoxilo amdinocilina, amoxicilina, bacampicilina, ácido bencilpenicilínico, bencilpenicilina sódica, epicilina, fenbenicilina, floxacilina, penamcilina, hidridido de penetamato, penicilina o-bentanfne, penicilina O, penicilina V, penicilina benzatínica V, penicilina V hidrabamina, penimepicilina y fencilicilina potásica), lincosamidas (por ejemplo, clindamicina y lincomicina), macrólidos (por ejemplo, azitromicina, carbomicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina y acistrato de eritromicina), amfomicina, bacitracina, capreomicina, colistina, enduracidina, enviomicina, tetraciclinas (por ejemplo, apiciclina, clortetraciclina, clomociclina y demeclociclina) 2,4-diaminopirimidinas (por ejemplo, brodimoprim), nitrofuranos (por ejemplo, furaltadona, y cloruro de furazolium), quinolonas y análogos de las mismas (por ejemplo, cinoxacina, ciprofloxacina, clinafloxacina, flumequina, y grepagloxacina), sulfamidas (por ejemplo, acetilo sulfametoxipirazina, bencilsulfamida, nopriilsulfamida, ftalilsulfacetamida, sulfacrisoidina y sulfacitina), sulfonas (por ejemplo, diatimosulfona, glucosulfona sódica y solasulfona), cicloserina, mupirocina y tuberina.

60 [0140] Otros ejemplos de agentes antibacterianos incluyen, pero no se limitan a acedapsona; acetosulfona sódica; alamecina; alexidina; amdinocilina; amdinocilina pivoxilo; ampicilina; amifloxacina; amifloxacina mesilato, amikacina, amikacina sulfato, ácido aminosalicílico, aminosalicilato sódico; amoxicilina; amfomicina; ampicilina, ampicilina

sódica; apalcilina sódica; apramicina; aspartocin; sulfato de astromicina; avilamicina; avoparcina; azitromicina; azlocilina; azlocilina sódica; clorhidrato de bacampicilina; bacitracina; disalicilato de metileno de bacitracina; bacitracina-cinc; bambemicinas; benzoilpas cálcico; beritromicina; sulfato de betamicina; biapenem; biniramycin; clorhidrato de bifenamine; magsulfex bispiritona; butikacina; sulfato de butirosina, sulfato de capreomicina; 5 carbencilina disódica; carbadox , carbencilina sódica indanyl; carbencilina fenil sódica, carbencilina potásica; carumonam sódico; cefaclor, cefadroxilo; cefamandol; cefamandol sódico; cefamandol nafate, cefaparola; cefatrizina ; cefazaflur sódico; cefazolina; cefazolina sódica; cefbuperazona; cefdinir; cefepima; clorhidrato de cefepima; cefetecol; clorhidrato cefmnenoxime; cefixima, cefmetazol, cefmetazol sódico; cefonicida monosódica; cefonicida sódica; cefoperazona sódica, cefotaxima sódica; cefotetán; cefotetán disódico; clorhidrato de cefotiam; cefoxitina; 10 cefoxitina sódica; cefpimizola, cefpimizola sódica; cefpiramida; cefpiramide sódica; cefpodoxima proxetil; sulfato de cefpiroma, cefprozil, cefroxadina, cefsulodina sódica; ceftazidima; ceftibuten, ceftizoxima sódica; ceftriaxona sódica, cefuroxima, cefuroxima sódica; cefuroxima pivoxetil; cefuroxima axetilo, cephacetrila sódica, cefalexina, clorhidrato de cefalexina; cefaloglicina; cefaloridina; cefalotina sódica; cefapirina sódica; cefradina; clorhidrato succinato de sodio, clorhexidina fosfanilato; cloroxilenol; clorhidrato de clortetraciclina; bisulfato de clortetraciclina cinoxacina; ciprofloxacina; clorhidrato de ciprofloxacino; cirolemicina; claritromicina; clorhidrato de clinafloxacina; clindamicina; clorhidrato de clindamicina, clorhidrato de clindamicina palmitato; fosfato de clindamicina, clofazimina, cloxacilina benzatina, cloxacilina sódica; cloxiquina; colistimetato de sodio, sulfato de colistina, coumermicina; coumermicina sódica; ciclacilina, cicloserina, dalfopristina, dapsona, daptomicina, demeclociclina, clorhidrato de demeclociclina ; 20 demeciclina; denofungina; diaveridina, dicloxacilina, dicloxacilina sódica, sulfato de dihidroestreptomicina; dipiritiona; diritromicina; doxiciclina, doxiciclina cálcica; fosfaté doxiciclina, doxiciclina hclato; droxacina sódica; enoxacina; epicilina; clorhidrato epitetraciclina; eritromicina; acistrato de eritromicina; estolato de eritromicina, eritromicina etilsuccinato; gluceptato de eritromicina; lactobionato de eritromicina; propionato de eritromicina, estearato de eritromicina, clorhidrato de etambutol; etionamida; fleroxacina; floxacilina; fludalanina, flumequina, fosfomicina, 25 fosfomicina trometamina; fumoxicilina; cloruro de furazolium; tartrato de furazolium; fusidato sódico; ácido fusídico, sulfato de gentamicina; gloximonom; gramcidina; haloprogina; hetacilina; hetacilina potásica; hexedina; ibafloxacina, imipenem; isoconazol; isepamicina; isoniazida; josamicina; sulfato de kanamicina; kitasamicina; levofuraltadona; levopropilicillin potásica; lexitromicina; lincomicina; clorhidrato de lincomicina, lomefloxacina, clorhidrato de lomefloxacina, mesilato de lomefloxacina; loracarbef; mafenida; meclociclina; sulfosalicilato de meclociclina, fosfato 30 potásico de megalomicina; mequidox; meropenem; metaciclina; clorhidrato metaciclina; metenammina, metenammina hipurato, metenammina mandelato; meticilina sódica; metioprim, clorhidrato de metronidazol; fosfato de metronidazol; mezlocilina; mezlocilina sódica; minociclina, clorhidrato de minociclina, clorhidrato de mirincamicina; monensina; monensina sódica, nafcilina sódica; nalidixat sódico, ácido nalidixico; natamicina; nebramicina; palmitato de neomicina, sulfato de neomicina; undecilenato de neomicina; sulfato de netilmicina; neutramicina; nifuradeno; 35 nifuraldezona; nifuratel, nifuratrone, nifurdazil; nifurimida; nifurpirinol; nifurquinazol; nifurtiazol; nitrocinla; nitrofurantoina; nitromida; norfloxacina; novobiocina sódica; ofloxacina; ormetoprim, oxacilina sódica; oximonam; oximonam sódico, ácido oxolínico, oxitetraciclina, oxitetraciclina cálcica; clorhidrato de oxitetraciclina; paldimicina; paraclorofenol; paulomicina; pefloxacino; pefloxacino mesilato; penamecilina; benzatina penicilina G, penicilina G potásica; penicilina G procaína, penicilina G sódica, penicilina V, penicilina V benzatina; penicilina V hidrabamina, 40 penicilina V potásica; pentizidona sódica; aminosalicilato de fenilo; piperacilina sódica; pibencilin sódica; piridicilina sódica; clorhidrato de pirlimicina; clorhidrato pivampicilina; pamoato de pivampicilina; probenato de pivampicilina; sulfato d polimixina B; porfiromicina; propikacina, pirazinamida, zinc piritione; acetato de quidecamina; quinupristina; racefenicol; ramoplanina; ranimicina; relomicina; repromicina; rifabutina; rifametano; rifamexil; rifamida, rifampina, rifapentina; rifaximina; rolitetraciclina; nitrato de rolitetraciclina; rosaramicina; butirato de rosaramicina; propionato de 45 rosaramicina, fosfato sódico de rosaramicina; estearato de rosaramicina; rosoxacina; roxarsona; roxitromicina; sanciclina; sanfetrinem sódico; sarmoxicilina; sarpicilina; scopafingina; sisomicina; sulfato de sisomicina; esparfloxacina; clorhidrato de espectinomicina, espiramicina; clorhidrato de stalimicina; steffimicina; sulfato de estreptomicina; streptonicozid; sulfabenz; sulfabenzamida; sulfacetamida; sulfacetamida sódica; sulfacitina; sulfadiazina, sulfadiazina sódica; sulfadoxina; sulfaleno; sulfamerazina; sulfameter; sulfametazina, sulfametizol; 50 sulfametoxazol; sulfamonometoxina; sulfamoxole, sulfanilato de zinc; sulfanitran; sulfasalazina; sulfasomizola; sulfatiazol; sulfazamet; sulfisoxazol; acetil sulfisoxazol, sulfisoxazol diolamina; sulfomixina; sulopenem; sultamicilina; suncilina sódica; cloridrato de talampicilina; teicoplanina; cloridrato de sujetofloxacina; temocilina, tetraciclina, cloridrato de tetraciclina, tipencilina potásica; complejo fosfato de tetraciclina; tetroxoprima; tianfenicol, tifencilina potásica, ticarcilina cresil sódica, ticarcilina disódica; ticarcilina monosódica; ticlatone; cloruro de tiodonio, 55 tobramicina, sulfato de tobramicina; tosufloxacina; trimetoprim; sulfato de trimetoprim; trisulfapirimidinas; troleandomicina; sulfato de trospectomicina; tirotricina; vancomicina; cloridrato de vancomicina; virginiamicina; zorbamicina.

[0141] Enfermedades causadas por hongos que se pueden tratar o prevenir por los métodos descritos en este documento incluyen, pero no se limitan a aspergilliosis, critococosis, esporotricosis, coccidioidomycosis, 60 paracoccidioidomycosis, histoplasmosis, blastomycosis, cigomicosis, y candidiasis.

[0142] Compuestos antifúngicos que se pueden utilizar en combinación con los complejos de la invención incluyen, pero no se limitan a: polienos (por ejemplo, anfotericina B, candicidina, mepartricina, natamicina, y nistatina),

alilaminas (por ejemplo, butenafina y naftifina) , imidazoles (por ejemplo, bifonazol, butoconazol, clordantoina, flutrimazol, isoconazol, ketoconazol y lanoconazol), tiocarbamatos (por ejemplo, tolclolato, tolindato y tolnaftato), triazoles (por ejemplo, fluconazol, itraconazol, saperconazol y terconazol), bromosalicilcloranilida, buclosamida ,
 5 propionato de calcio, clorfenesina, ciclopirox, azaserina, griseofulvina, oligomicinas, undecilinato de neomicina, pirrolnitrina, sicanina, tubercidina y viridina. Otros ejemplos de compuestos antifúngicos incluyen, pero no se limitan a acrisorcinaa; ambruticina; anfotericina B; azaconazol; azaserina; basifungina; bifonazol; clorhidrato de bifenamina; bispiritione magsulfex; nitrato de butoconazol, undecilenato cálcico; candidina; carbol-fucsina; clordantoina; ciclopirox; ciclopirox olamina; cilofungina; cisonazol; clotrimazol; cuprimixina; denofungina; dipiritione; doconazol; econazol, nitrato de econazol; enilconazol; nitrato de etonam; nitrato de fenticonazol; filipina, fluconazol, flucitosina;
 10 fungimicina; griseofulvina; hamicina; isoconazol, itraconazol, kalafungin; ketoconazol; lomofungina; lidimicina; mepartricina, miconazol, nitrato de miconazol, monensina, monensina sódica; clorhidrato de naftifina, undecilenato de neomicina; nifuratel; nifurmerona, clorhidrato de nitalamina; nistatina; ácido octanoico; nitrato de orconazol; nitrato de oxitonazol, clorhidrato de oxifungina; clorhidrato de parconazol; partricina; ioduro de potasio, proclonol, zinc piritonia; pirrolnitrin; rutamicin; cloruro sanguinarium; saperconazol; scopafungina; sulfuro de selenio;
 15 sinefungina; nitrato de sulconazol; terbinafina; terconazole; tiram; ticlatone; tioconazol; tolclolato; tolindate; tolnaftato; triacetina; triafuigina; ácido undecilénico; viridofilvina; undecilenato de zinc; y clorhidrato de zinoconazol.

[0143] Las enfermedades parasitarias que pueden tratarse o prevenirse con los métodos aquí descritos incluyen pero no se limitan a, ameibiasis, paludismo, leishmaniasis, coccidiosis, giardiasis, criptosporidiosis, toxoplasmosis y tripanosomiasis. También se abarca infecciones por gusanos varios, tales como, pero no limitándose a ascariasis, anquilostomiasis, tricuriasis, strongiloidiasis toxocariasis, triquinosis, oncocerciasis, filaria, y dirofilarias. También se abarca infecciones por trematodos diversos, tales como, pero no se limitan a esquistosomiasis, paragonimiasis, y clonorquiasis. Los parásitos que causan estas enfermedades se pueden clasificar en función de si son intracelulares o extracelulares. Un "parásito intracelular" como se usa aquí es un parásito que en todo su ciclo de vida es intracelular. Ejemplos de parásitos intracelulares incluyen *Leishmania* spp., *Plasmodium* spp., *Spiralis Trypanosoma* cruzi, *Toxoplasma gondii*, *Babesia* spp., y *Trichinella spiralis*. Un "parásito extracelular" como se usa aquí es un parásito que en todo su ciclo de vida es extracelular. Parásitos extracelulares capaces de infectar a los humanos incluyen la *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Enterocytozoon bienuesi*, *Naegleria* y *Acanthamoeba*, así como la mayoría de los helmintos. Sin embargo, otra clase de parásitos se define como siendo principalmente extracelular pero con una existencia intracelular obligada en una etapa crítica de su ciclo de vida. Estos parásitos se conocen aquí como "parásitos intracelulares obligados". Estos parásitos pueden existir la mayor parte de su vida o sólo una pequeña parte de su vida en un entorno extracelular, pero todos ellos tienen al menos una etapa intracelular obligada en sus ciclos de vida. Esta última categoría incluye los parásitos *Trypanosoma rhodesiense* y *Trypanosoma gambiense*, *Isospora* spp., *Cryptosporidium* spp, *Eimeria* spp. *Neospora* spp., *Sarcocystis* spp., y *Schistosoma* spp.

[0144] Muchos ejemplos de compuestos antiprotozoarios que se pueden utilizar en combinación con los complejos de la invención para el tratamiento de las enfermedades parasitarias son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a: quininas, cloroquina, mefloquina, proguanil, pirimetamina, metronidazol, furoato de diloxanida, tinidazol, anfotericina, estibogluconato de sodio, trimoxazol e isetionato de pentamidina. Muchos ejemplos de medicamentos antiparasitarios que se pueden utilizar en combinación con los complejos de la invención para el tratamiento de las enfermedades parasitarias son conocidos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a: mebendazol, levamisol, niclosamida, praziquantel, albendazol, ivermectina, dietilcarbamazina y tiabendazol. Otros ejemplos de compuestos antiparasitarios incluyen, pero no se limitan a acedapsona; clorhidrato de amodiaquina; arquinatate; arteflene; cloroquina, clorhidrato de cloroquina, fosfato de cloroquina; pamoato de cicloguanil; fosfato de enpirolina; hidrocloreuro de halofantrina; sulfato de hidroxicloquina, clorhidrato de mefloquina; menoctona; clorhidrato de mirincamicina, fosfato de primaquina ; pirimetamina; sulfato de quinina, y tebuquina.

[0145] En algunas realizaciones, pueden ser utilizados anticuerpos para el tratamiento y / o prevención de enfermedades infecciosas. En una realización menos preferida, los complejos de la invención se pueden utilizar en combinación con una composición de vacuna no basada en $\alpha 2M$. Ejemplos de estas vacunas para humanos se describen en el Jordan Report 2000, Accelerated Development of Vaccines, National Institute of Health. Muchas vacunas para el tratamiento de vertebrados no humanos se dan a conocer en Bennett, K. Compendium of Veterinary Products, 3rd ed. North American Compendiums, Inc., 1995.

5.6. REGÍMENES TERAPÉUTICOS

[0146] Para cualquiera de las terapias de combinación descritas anteriormente para el tratamiento o la prevención del cáncer y las enfermedades infecciosas, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar antes, simultáneamente con o después de la administración de la modalidad combinada. La modalidad combinada puede ser cualquiera de las modalidades descritas anteriormente para el tratamiento o la prevención del cáncer o enfermedades infecciosas.

[0147] En una realización de la presente exposición, la composición farmacéutica de la presente invención se aplica a un sujeto a razonablemente el mismo tiempo que la otra modalidad. Este método establece que las dos

administraciones se realizan en un plazo de menos de un minuto a unos cinco minutos, o hasta cerca de sesenta minutos entre ellas, por ejemplo, en la misma visita del médico.

5 [0148] En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la invención y una modalidad combinada se administran exactamente al mismo tiempo. En otra realización, la composición farmacéutica de la invención y la modalidad combinada se administran en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo tal que las composiciones farmacéuticas de la invención y la modalidad pueden actuar juntas para proporcionar un beneficio mayor que si se administra sola. En otra realización, las composiciones farmacéuticas de la invención y una modalidad combinada se administra lo suficientemente cerca en el tiempo a fin de proporcionar los resultados deseados terapéuticos o profilácticos. Cada una se puede administrar simultáneamente o por separado, en cualquier forma apropiada y por cualquier vía adecuada. En una realización, las composiciones farmacéuticas de la invención y la modalidad son administradas por diferentes vías de administración. Alternativamente, cada una es administrada por la misma vía de administración. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser administradas en los mismos o diferentes lugares, por ejemplo, el brazo y la pierna. Cuando se administran simultáneamente, las composiciones farmacéuticas de la invención y la modalidad combinada pueden o no ser administradas en mezcla o en el mismo lugar de la administración por la misma vía de administración.

10 [0149] En varias realizaciones de la presente divulgación, los complejos de la presente invención y la modalidad combinada se administran con menos de 1 hora de diferencia, en alrededor de 1 hora de diferencia, 1 hora a 2 horas de diferencia, 2 horas a 3 horas de diferencia, 3 horas a 4 horas de diferencia, 4 horas a 5 horas de diferencia, 5 horas a 6 horas de diferencia, 6 horas a 7 horas de diferencia, 7 horas a 8 horas de diferencia, 8 horas a 9 horas de diferencia, 9 horas a 10 horas de diferencia, 10 horas a 11 horas de diferencia, 11 horas a 12 horas de diferencia, no más de 24 horas de diferencia, o no más de 48 horas de diferencia. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención y la composición de la vacuna se administran con 2 a 4 días de diferencia, 4-6 días de diferencia, una semana de diferencia, 1 a 2 semanas de diferencia, 2-4 semanas de diferencia, un mes de diferencia, 1 a 2 meses de diferencia, o 2 o más meses de diferencia. En realizaciones preferidas, los complejos de la invención y la modalidad combinada se administran en un período de tiempo en que ambas siguen activas. Un experto en la materia sería capaz de determinar un marco de tiempo determinando la vida media de cada componente administrado.

20 [0150] En una realización, la composición farmacéutica de la invención y la modalidad combinada se administran dentro de la misma visita al paciente. En una realización preferida específica, las composiciones farmacéuticas de la invención se administran antes de la administración de la modalidad. Alternativamente, las composiciones farmacéuticas de la invención se administran después de la administración de la modalidad.

25 [0151] En ciertas modalidades de la presente descripción, las composiciones farmacéuticas de la invención y la modalidad se administran cíclicamente a un sujeto. La terapia cíclica implica la administración de las composiciones farmacéuticas de la invención por un período de tiempo, seguido por la administración de una modalidad por un período de tiempo y la repetición de esta administración secuencial. La terapia cíclica puede reducir el desarrollo de resistencia a uno o más de los tratamientos, evitar o reducir los efectos secundarios de una de las terapias, y / o mejorar la eficacia del tratamiento. En tales realizaciones la descripción contempla la administración alterna de una composición farmacéutica de la invención seguido por la administración de una modalidad de 4 a 6 días más tarde, preferible 2 a 4 días después, más preferiblemente de 1 a 2 días más tarde, en donde este ciclo puede repetirse tantas veces como se desee. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención y la modalidad se administran alternativamente en un ciclo de menos de 3 semanas, una vez cada dos semanas, una vez cada 10 días o una vez cada semana. En ciertas realizaciones, se administra al paciente la composición de la invención cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 días.

30 [0152] En una realización particular, las composiciones farmacéuticas de la invención se administran a un sujeto dentro de un plazo de una hora y veinte cuatro horas después de la administración de una modalidad. El plazo se puede ampliar aún más a unos pocos días o más si es un proceso lento, o de tipo continuo de liberación del sistema de modalidad de entrega se utiliza. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se administran a un sujeto periódicamente como se describe anteriormente, durante todo el resto de la vida de los pacientes.

35 5.7. ENSAYOS DE ACTIVIDAD DE CD91

40 [0153] Después de su purificación, un complejo α 2M-molécula antigénica puede ser además caracterizado para medir su efecto sobre la actividad de CD91 y la vía de señalización de CD91. Por ejemplo, el complejo α 2M -molécula antigénica se puede caracterizar comprobando su efecto sobre la actividad celular de CD91. Estos ensayos incluyen ensayos de señalización aguas abajo, ensayos de presentación de antígenos, ensayos para la activación antígeno-específica de linfocitos T citotóxicos, y similares. Estos ensayos se pueden utilizar para ensayo y / o medida de una respuesta inmune.

[0154] Un complejo $\alpha 2M$ se puede analizar para su efecto sobre la actividad innata de señalización de CD91. Por ejemplo, los efectos de señalización aguas abajo de la activación de CD91 que pueden ser analizadas incluyen, pero no se limitan a: locomoción y quimiotaxis mejorada de macrófagos (Forrester et al, 1983, *Immunology* 50: 251 - 259), regulación decreciente de la síntesis de proteasa, y elevación del calcio intracelular, los fosfatos de inositol y AMP cíclico (Misra et al., 1993, *Biochem. J.*, 290:885-891). Otras respuestas inmunes innatas que se pueden ensayar son la liberación de citoquinas (es decir, la IL-12, IL1 β , GMCSF, y TNF α).

[0155] Por ejemplo, un ensayo de quimiotaxis se puede utilizar para caracterizar adicionalmente un complejo $\alpha 2M$ candidato aislado del suero de un mamífero. Se sabe que $\alpha 2M$ modificada por la interacción de la proteasa puede provocar la migración direccional de las células hacia su ligando. Un número de técnicas se pueden utilizar para probar la migración quimiotáctica in vitro (véase, por ejemplo, Leonard et al., 1995, "Measurement of α and β Chemokines", in *Currant Protocols in Immunology*, 6.12.1-6.12.28, Ed. Coligan et al., John Wiley & Sons, Inc. 1995). Por ejemplo, un compuesto candidato puede ser probado para su capacidad de modular la capacidad de $\alpha 2MR$ para inducir la migración de las células que expresan el receptor utilizando un gradiente de quimiocinas en una cámara de quimiotaxis Boyden multipozo. En un ejemplo específico de este método, una dilución en serie de un complejo $\alpha 2M$ identificadas en el filtro principal se coloca en los pozos de la parte inferior de la cámara de quimiotaxis Borden. Una cantidad constante de ligando también se agrega a la serie de dilución. Como control, por lo menos una alícuota sólo contiene ligando (por ejemplo, $\alpha 2M$). La contribución del complejo $\alpha 2M$ a la actividad quimiotáctica de $\alpha 2MR$ se mide comparando el número de células que migran en la superficie inferior del filtro de membrana de las alícuotas que contienen sólo ligando (por ejemplo, $\alpha 2M$), con el número de células en alícuotas que contienen polipéptido $\alpha 2M$ y ligando (por ejemplo, $\alpha 2M$). Si la adición del complejo $\alpha 2M$ a la solución de ligando (por ejemplo, $\alpha 2M$) resulta en una disminución del número de células detectadas en la membrana en relación con el número de células detectadas mediante una solución que contiene sólo ligando (por ejemplo, $\alpha 2M$), entonces se identifica un antagonista de inducción por ligando (por ejemplo, $\alpha 2M$) de la actividad quimiotáctica de células que expresan $\alpha 2M$ R.

[0156] La elevación de la concentración intracelular de calcio ionizado ($[Ca^{2+}]_i$) es también un indicador de la activación de $\alpha 2M$ R (Misra et al., 1993, supra). Así, los ensayos de flujo de calcio se pueden utilizar como filtros secundarios para caracterizar más los efectos del complejo $\alpha 2M$. La concentración intracelular de iones calcio puede ser medida en las células que expresan el CD91 en presencia del ligando, en la presencia y la ausencia de un complejo $\alpha 2M$. Por ejemplo, la movilización de calcio puede ser detectada y medida por citometría de flujo, mediante un etiquetado con tintes fluorescentes que se encuentran atrapados dentro de la célula. Un tinte fluorescente como indo-1 muestra un cambio en el espectro de emisión al unir calcio, la proporción de fluorescencia producida por el medio de contraste por el tinte ligado al calcio a la producida por el tinte no unido se puede utilizar para estimar la concentración de calcio intracelular. En una realización concreta, las células se incuban en una cubeta en medios que contienen Indo-1 a 37°C y se excitan, y la fluorescencia se mide utilizando un fluorímetro (Photon Technology Corporation, International). El ligando se agrega en un momento específico, en la presencia y la ausencia de un complejo $\alpha 2M$, EGTA se añade a la cubeta para liberar y quelar todo el calcio, y se mide la respuesta. La unión del ligando resulta en un aumento de la concentración de Ca^{2+} intracelular en las células que expresan $\alpha 2MR$. Un agonista resulta en una relativamente mayor concentración intracelular de Ca^{2+} , mientras que un antagonista resulta en una relativamente menor concentración de Ca^{2+} intracelular.

[0157] En otras realizaciones, para detectar o medir la actividad de los complejos $\alpha 2M$ - molécula antigénica, un ensayo de presentación de antígenos se puede realizar para predecir como será la eficacia de complejos $\alpha 2M$ - molécula de antígenos $\alpha 2M$ in vivo.

[0158] Estos ensayos de re-presentación se conocen en la técnica, y se han descrito anteriormente (Suto y Srivastava, 1995, *Science* 269:1585-1588). Por ejemplo, en una realización, las células presentadoras de antígenos, como por ejemplo una línea celular de macrófagos (por ejemplo, RAW264.7), se mezclan con células T antígeno-específicas en medios, USANDO alrededor de 10.000 células de cada tipo en aproximadamente una proporción de 1:1. Complejos de $\alpha 2M$ y un antígeno péptido se añaden a las células y el cultivo se incuba durante aproximadamente 20 horas. En una realización, puede ser usado un ensayo de liberación de IFN- γ para medir o detectar una respuesta de células T. Después del lavado, las células se fijan, permeabilizan, y reaccionan con anticuerpos marcados con tinte reactivos con IFN- γ humano (PE-anti-IFN- γ). Las muestras son analizadas por citometría de flujo utilizando técnicas estándar. Alternativamente, un inmunoensayo de filtro, ELISA (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima), o inmunoensayo ligado a enzimas (ELISPOT), se puede utilizar para detectar determinadas citoquinas producidas por una célula T activada. En una realización, por ejemplo, una placa de microtitulación soportada por nitrocelulosa está recubierta con un anticuerpo primario purificado específico de citoquina, es decir, anti-IFN- γ , y la placa se bloquea para evitar el fondo debido a unión no específica de otras proteínas. Una muestra de células APC estimuladas con antígeno se diluye en los pocillos de la placa de microtitulación. Se añade un anticuerpo anti-citoquina secundario etiquetado, por ejemplo etiquetado con biotina. El complejo citoquina anticuerpo puede entonces ser detectado, a saber, por estreptavidina conjugada con enzima - las células secretoras de citoquinas aparecerán como "puntos" por métodos de detección visual, microscópicos, o

electrónicos. En otra realización, puede usarse ensayo " tinción de tetrámero " (Altman et al, 1996, Science 274.: 94-96) para identificar antígenos específicos de células-T. Por ejemplo, una molécula de MHC que contiene un antígeno péptido específico, es multimerizada hacer tetrámeros péptidos solubles y etiquetada, por ejemplo, por complejación a estreptavidina. El complejo de antígeno MHC-péptido se mezcla entonces con una población de células T estimuladas. La biotina se utiliza luego para teñir células T que reconocen y se unen al complejo MHC-antígeno.

5.8. INDUCCCIÓN DE NECROSIS DE CÉLULA TUMORAL

[0159] En una cierta realización de la divulgación puede ser ventajoso inducir necrosis tumoral en un mamífero antes de aislar complejos alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica del animal. Los solicitantes han demostrado que la inducción de necrosis del tumor antes del aislamiento de los complejos puede mejorar la eficacia de los complejos en el tratamiento y prevención del cáncer. Vea la sección 6 Ejemplo de resultados. Los solicitantes creen, sin limitarse a ninguna teoría, que las células tumorales necróticas cubren de antígenos específicos al tumor. Las moléculas antigénicas depositadas entran a continuación en el fluido corporal como la sangre y forman complejos con alfa (2) macroglobulina.

[0160] Numerosos métodos se pueden utilizar para inducir necrosis tumoral. La administración de agentes que inducen la necrosis de las células tumorales es común en la terapia del cáncer. Ejemplos de agentes de necrosis tumoral-incluyen, pero no se limitan a lejía, cisplatino / gel de epinefrina inyectable (Vogl et al., 2002, British Journal of Cancer 86 (4) :524-529), ONO-4007 un análogo sintético del lípido A (Satoh et al., 2002, Cáncer Immunol. Immunotherapy 50 (12) :653-662), factor de necrosis tumoral (TNF), etanol soluble (Burgener et al., 1987, Invest Radiol. 22 (6) :472-478), anticuerpos contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr alfa) (Wersall et al., 1997, Cáncer Immunol. inmunoterapia. 44 (3) :157-164), OK-432 un estreptococo atomizado tratado con penicilina (ISHIKO et al ., 1997 Int. J. Immunopharmacol. 19 (7) :405-412), adenovirus (ONYX-015) (Ganly et al., 2000, Clin. Cancer Res. 6 (3) :798-806), proteína quimérica IL4- PE (Rand et al., 2000, Clin. cáncer Res.6 (6) :2157-2165), nimustina (ACNU) (Wakabayashi et al., 2001, 18 (1) :23-28).

[0161] La necrosis tumoral también puede lograrse con otros métodos tales como, pero no limitados a la fotosensibilización de tumor que involucra terapia fotodinámica con hipercina (Blank et al., 2001, Oncol. Res. 12 (9-10:409-418)), irradiación de microondas selectiva de los tejidos como se describe en la patente de EE.UU. nº. 6.131.577, aplicación de calor en el tejido tumoral para inducir la necrosis como se describe en la patente de EE.UU. nº. 5.928.159, calentamiento por láser de carne bajo la superficie como se describe en la patente de EE.UU. nº. 5.897.549, terapia transuretral ultrasonido enfocado para causar necrosis de los tejidos tumorales de próstata como se describe en la patente de EE.UU. nº. 5895356 y 5843144, nitrato de plata y pasta de dextrano utilizado en cánceres de útero para lograr necrosis del revestimiento de las cavidades corporales como se describe en la patente de EE.UU. nº. 5.891457, pulsos de radiación magnética como se describe en la patente de EE.UU. n ° 5, 776,175, radiaciones no ionizantes como se describe en la patente de EE.UU. que no. 5, 527,352, catéter con medios de calentamiento como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.492.529, guiado endoscópico de energía laser como se describe en la patente de EE.UU. nº 5487740, dispositivos con electrodos para calentar tejido selectivo como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.318.564, 4.237.898 y 4,186729, termoterapia por radiofrecuencia como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.186.181, 4.154.246, 4.119.102, 3.991.770 y 4.230.129, un dispositivo inflable calentable para el tratamiento del revestimiento de tejido interno como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.159.925, composiciones inmunopotenciadoras como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.149.527, inyección de partículas ferromagnéticas cerca de tejido tumoral como se describe en la patente de EE.UU. nº 4.983.159, 4.392.040 y 4.545.368, aplicación por catéter de calor y radiación a los tejidos como se describe en la patente de EE.UU. nº 4.763.671, y tratamiento de los tejidos con un medio de refrigeración de gas licuado como se describe en la patente de EE.UU. n ° 3, 674,031.

[0162] La inducción de la necrosis puede ser entre una hora y dos meses antes del aislamiento de complejos alfa (2) macroglobulina.

[0163] La inducción puede ser 1 hora, 12 horas, 1 día, 3 días, 1 semana, 3 semanas, 5 semanas, 1 mes o 2 meses antes del aislamiento de complejos alfa (2) macroglobulina. La inducción de la necrosis se puede repetir, si es necesario, como sería entendido por el médico experto.

[0164] En ciertas realizaciones, los agentes quimioterapéuticos se administran al paciente antes del aislamiento de los complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica. En tales realizaciones, se pueden utilizar agentes quimioterapéuticos tales como los descritos anteriormente en la sección 5.4.

5.9. PAUTAS DE DOSIFICACIÓN Y FORMULACIÓN

[0165] Complejos covalentes o no covalentes de polipéptidos α 2M y moléculas antigénicas la invención pueden formularse en preparaciones farmacéuticas para la administración a mamíferos para el tratamiento o la prevención del cáncer o de enfermedades infecciosas a dosis terapéuticamente eficaces para la inmunoterapia. La solubilidad de los fármacos y el sitio de absorción son factores que deben considerarse al elegir la vía de administración de un agente terapéutico.

- [0166] La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales composiciones que comprenden complejos de α 2M se puede determinar mediante procedimientos farmacéuticos normales en cultivos celulares o en animales experimentales, por ejemplo, para determinar la DL50 (dosis letal para el 50% de la población) y la ED50 (dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede ser expresado como el cociente LD50/ED50. Los complejos alfa (2) macroglobulina que exhiben índices terapéuticos grandes son preferidos. Mientras que pueden ser utilizados compuestos que presentan efectos secundarios tóxicos, se debe tener cuidado al diseñar un sistema de administración que se dirige a tales composiciones formado por complejos α 2M en el sitio del tejido afectado con el fin de minimizar posibles daños a células no infectadas y, por tanto, reducir los efectos secundarios.
- [0167] El sujeto o paciente que recibe el tratamiento es preferentemente un mamífero, incluyendo pero no limitado a, animales domésticos, como perros y gatos, animales salvajes, como zorros y mapaches, ganado y aves de corral, incluidos los caballos, vacas, ovejas, pavos y pollos, así como cualquier roedor. Más preferiblemente, el sujeto es humano.
- [0168] Los datos obtenidos de los ensayos de cultivos celulares y estudios en animales se pueden utilizar en la formulación de un rango de dosificación para uso en humanos. La dosificación de estas composiciones que comprenden complejos α 2M se encuentra preferentemente en un rango de concentraciones circulantes que incluyen la ED50 con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier composición que comprende complejos α 2M utilizados en el método de la invención, la dosis terapéuticamente efectiva puede ser estimada inicialmente a partir de ensayos de cultivo de células. Una dosis puede ser formulada en modelos animales para lograr una gran concentración plasmática circulante que incluye la IC50 (es decir, la concentración de las composiciones que comprenden complejos α 2M que logra una inhibición mitad de la máxima de los síntomas) según lo determinado en el cultivo celular. Esta información puede ser utilizada para determinar con mayor precisión dosis útiles en humanos. Los niveles en plasma se pueden medir, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento.
- [0169] La selección de la dosis efectiva preferida será determinada por un utilizador experto en la materia considerando varios factores que serán conocidos por un experto en la materia. Tales factores incluyen la forma particular de composiciones que comprenden complejos α 2M, y sus parámetros farmacocinéticos como la biodisponibilidad, metabolismo, vida media, etc. que habrán sido establecidos durante los procedimientos desarrollo usuales empleados normalmente al obtener la aprobación reglamentaria de un compuesto farmacéutico. Otros factores en la consideración de la dosis incluyen la condición o enfermedad a tratar o el beneficio a lograr en un individuo normal, la masa corporal del paciente, la vía de administración, si la administración es aguda o crónica, medicación concomitante, y otros factores que se sabe bien que afectan la eficacia de agentes farmacéuticos administrados. Por lo tanto la dosis exacta se decidirá de acuerdo con el juicio del médico y las circunstancias de cada paciente, por ejemplo, dependiendo de la condición y el estado inmunológico del paciente, de acuerdo a las normas técnicas clínicas.
- [0170] Complejos alfa (2) macroglobulina de la invención pueden opcionalmente administrarse con uno o más adyuvantes para aumentar la respuesta inmunológica. Por ejemplo, dependiendo de la especie huésped, los adyuvantes que pueden ser utilizados incluyen, pero no se limitan a: sales minerales o geles minerales tales como el hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio y fosfato de calcio; sustancias de superficie activa como lisolectina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos, emulsiones de aceite, hemocianinas de lapa californiana, y dinitrofenol, moléculas inmunoestimulantes, como las citocinas, saponinas (por ejemplo, QS-21), derivados de dipéptidos y tripéptidos de muramilo, dinucleótidos CpG, oligonucleótidos CpG, lípidos A monofosforilo, y polifosfazenos, adyuvantes particulados y microparticulados, tales como emulsiones, liposomas, virosomas, cocleatos, o un adyuvante mucosal de complejo estimulantes inmune, Freund (completo e incompleto), y adyuvantes humanos potencialmente útiles como BCG (bacilo de Calmette-Guérin) y *Corynebacterium parvum*). Además, las siguientes patentes y publicaciones impresas divulgan oligonucleótidos inmunoestimulantes que incluyen oligonucleótidos CpG que se pueden utilizar en las composiciones de la invención: las patentes de EE.UU. 6.207.646; 6.339.068; 6.239.116; 6.429.199; y la publicación de patente PCT, WO 01/22972, WO 00/06588, por Krieg et al.; WO 01/83503, WO 01/55370 y WO 01/12804 por Agrawal, WO 02/052002 por Fearon et al.; WO 01/35991 de Tuck et al.; WO 01/12223 por Van Nest, WO 98/55495, WO 99/62923 por Schwartz, la patente de EE.UU. 6,406,705 por Davis et al.; PCT y publicación de la patente WO 02/26757 por Kandimalla et al.
- [0171] Otros adyuvantes apropiados que pueden ser utilizados en la invención se puede encontrar en A Compendium of Vaccine Adjuvants and Excipients (2nd Edition), Vogel, F., Powell, M., y Alving, C., in Vaccine Design - The Subunit and Adjuvant Approach, Powell, M., Newman, M., Burdman, J., Editors, Plenum Press, New York, 1995, pp. 141-227, y 2nd Meeting on Novel Adjuvants Currently In/Close to Human Clinical Testing, World Health Organization - Organization Mondiale de la Sante Foundation Merieux, Anney, France, 5-7 June 2000, Kenney, R., Rabinovich, N.R., Pichyangkul, S., Price, V., and Engers, H., Vaccine, 20 (2002) 2155-63.
- [0172] Los complejos alfa (2) macroglobulina de la invención pueden ser administrados utilizando cualquier vía de administración deseada, incluyendo pero no limitado a, por ejemplo, por vía subcutánea, intravenosa o

- 5 intramuscular, aunque se prefiere por vía intradérmica o mucosal. Ventajas de la administración intradérmica o mucosal incluyen el uso de dosis más bajas y una rápida absorción, respectivamente. Rutas de la mucosa de la administración incluyen, pero no limitado a, orales, rectales y administración nasal. Las preparaciones para administraciones mucosales son adecuadas en diversas formulaciones como se describe a continuación. La vía de administración puede variar durante el curso del tratamiento.
- 10 [0173] Las dosis recitadas arriba son preferiblemente dadas una vez por semana durante un período de alrededor de 4-6 semanas, y el modo o el sitio de administración es preferentemente variado con cada administración. En un ejemplo preferido, las administraciones subcutáneas se dan, con cada sitio de administración variado de forma secuencial. Así, a modo de ejemplo y no de limitación, la primera inyección se puede administrar por vía subcutánea en el brazo izquierdo, la segunda en el brazo derecho, la tercera en el vientre a la izquierda, la cuarta a la derecha del vientre, la quinta en el muslo izquierdo, la sexta en el muslo derecho, etc. El mismo sitio se puede repetir después de un intervalo de una o más inyecciones. Además, se puede dar inyecciones fraccionadas. Así, por ejemplo, la mitad de la dosis se puede administrar en un sitio y la otra mitad en otro sitio en el mismo día.
- 15 [0174] Alternativamente, el modo de administración es variado secuencialmente, por ejemplo, las inyecciones semanales se dan en secuencia por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa o intraperitoneal.
- [0175] Después de 4-6 semanas, las inyecciones se dan más preferentemente a intervalos de dos semanas durante un período de tiempo de uno o más meses. Las últimas inyecciones pueden administrarse mensualmente. El ritmo de las inyecciones últimas puede ser modificado, dependiendo de la evolución clínica del paciente y la respuesta a la inmunoterapia.
- 20 [0176] Las composiciones farmacéuticas para el uso como se describe en este documento pueden ser formuladas de manera convencional utilizando uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptable.
- 25 [0177] Las composiciones que comprenden composiciones covalentes o no covalentes que comprenden complejos $\alpha 2M$ formulados en un vehículo farmacéuticamente aceptable pueden ser preparados, envasados y etiquetados para el tratamiento del cáncer o enfermedad infecciosa indicado. En aspectos preferidos, se administra a un humano una cantidad de una composición que comprende complejo $\alpha 2M$ que está en el rango de 1 a 5 mg Pg, preferiblemente de 10 a 200 pg, preferiblemente 10, 20, 25, 50, 100 o 200 Pg. Preferiblemente, la composición de la invención que comprende complejo $\alpha 2M$ se administra una vez por semana durante aproximadamente 4-6 semanas, por vía intradérmica con el sitio de administración variado de forma secuencial. Preferiblemente, la composición de una invención que comprende complejo $\alpha 2M$ se administra como tratamiento primario o doce horas a una semana después de que el tejido enfermo sea tratado in vivo para inducir la necrosis de los tejidos.
- 30 [0178] Si el complejo es soluble en agua, entonces puede ser formulado en un tampón apropiado, por ejemplo, suero tamponado con fosfato u otras soluciones fisiológicas compatibles. Alternativamente, si el complejo resultante tiene baja solubilidad en disolventes acuosos, entonces puede ser formulado con un tensioactivo no iónico como Tween, o glicol de polietileno. Así, los complejos covalentes o no covalentes y / o $\alpha 2M$ y sus solvatos fisiológicamente aceptables se pueden formular para administración por inhalación o insuflación (ya sea a través de la boca o la nariz) o administración oral, bucal, parenteral, rectal o, en el caso de tumores, se inyecta directamente en un tumor sólido.
- 35 [0179] En una realización preferida, la composición de la invención que comprende alfa (2) macroglobulina comprende además 9% de sacarosa, fosfato de potasio 5.10 mM. En una realización preferida relacionada, el pH de la composición de la invención es 7.
- 40 [0180] Para la administración oral, la preparación farmacéutica puede estar en forma líquida, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o puede presentarse como un medicamento para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden ser preparadas por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de la celulosa o grasas hidrogenadas comestibles), agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia), vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres de grasa o aceites vegetales fraccionados) y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, comprimidos o cápsulas preparadas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables como agentes de enlace (por ejemplo, almidón pregelatinizado de maíz, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); cargas (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrógeno fosfato de calcio), lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, fécula de patata o almidón glicolato de sodio), o agentes humectantes (por ejemplo, lauril sulfato de sodio). Los comprimidos pueden ser recubiertos por métodos bien conocidos en la técnica.
- 45 [0181] Preparaciones para administración oral pueden ser formuladas adecuadamente para dar liberación controlada de las composiciones que comprenden los complejos $\alpha 2M$. Dichas composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional.
- 55

[0182] Para la administración por inhalación, las composiciones que comprenden los complejos α 2M pueden ser convenientemente entregada en forma de una presentación en aerosol en envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado la unidad de dosificación puede ser determinada proporcionando una válvula para liberar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para uso en un inhalador o insuflador se pueden formular conteniendo un polvo mezcla de las composiciones que comprenden los complejos α 2M y una base de polvo adecuada, como lactosa o almidón.

[0183] Las composiciones que comprenden los complejos α 2M se pueden formular para la administración parenteral por inyección, por ejemplo, por inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones de inyección pueden presentarse en forma de dosis unitarias, por ejemplo, en ampollas o en envases de dosis múltiples, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y puede contener agentes de formulación como agentes de suspensión, de estabilización y / o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede ser en forma de polvo para su reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

[0184] Las composiciones que comprenden complejos α 2M también se pueden formular en composiciones rectales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, conteniendo bases convencionales de supositorios, tales como la manteca de cacao u otros glicéridos.

[0185] Además de las formulaciones descritas anteriormente, las composiciones que comprenden complejos α 2M también pueden formularse como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada pueden ser administradas por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, las composiciones que comprenden complejos α 2M pueden formularse con materiales adecuados poliméricos o hidrofóbicos (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o derivados moderadamente solubles, por ejemplo, como una sal moderadamente soluble. Liposomas y emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de entrega o portadores de fármacos hidrofílicos.

[0186] Las composiciones que comprenden complejos α 2M, si se desea, pueden presentarse en un envase o dispositivo dispensador que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contiene los complejos covalentes o no covalentes de α 2M y moléculas antigénicas. El paquete puede comprender, por ejemplo, lámina de metal o plástico, como un blister. El dispositivo de envase o dispensador puede ir acompañado de instrucciones para su administración.

5.10. DETERMINACIÓN DE LA EFICACIA DE LA VACUNA

[0187] La inmunopotencia de las composiciones de la invención puede ser determinada por el control de la respuesta inmune en animales de laboratorio después de la inmunización con las composiciones de la invención, o mediante el uso de cualquier inmunoensayo conocidos en la técnica. La generación de una respuesta humoral (anticuerpo) y / o de inmunidad mediada por células, se puede tomar como una indicación de una respuesta inmune. Animales de laboratorio pueden incluir ratones, hamsters, perros, gatos, monos, conejos, chimpancés, etc, y eventualmente sujetos humanos. Los métodos de introducción de las vacunas, pueden incluir oral, intracerebral, intradérmica, transdérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal o cualquier otra vía estándar de inmunización. La respuesta inmune de los sujetos de prueba puede ser analizada por diversos enfoques, tales como: reactividad del suero resultante inmune al antígeno de interés, según lo probado por técnicas conocidas, por ejemplo, ensayo de inmunoabsorción (ELISA), inmunoblots, radioinmunoprecipitaciones, etc, o por la protección del huésped inmunizado contra el cáncer o las enfermedades infecciosas.

[0188] Como un ejemplo de los experimentos con animales adecuados de una vacuna de protección de una enfermedad, la vacuna divulgada en este documento puede ser probada en conejos para la capacidad de inducir una respuesta de anticuerpos a la molécula antigénica. Pueden ser utilizados conejos blancos machos adultos jóvenes de Nueva Zelanda libres de patógenos específicos (SPF). El grupo de prueba cada uno recibe una concentración fija de la vacuna. Un grupo de control recibe una inyección de 1 mM Tris-HCl pH 9,0, sin la molécula de antígeno. Se pueden extraer muestras de sangre de los conejos cada una o dos semanas, y analizarse el suero para anticuerpos a la molécula antigénica. La presencia de anticuerpos específicos para el antígeno se puede probar, por ejemplo, utilizando un ensayo ELISA.

5.11. KITS

[0189] La presente descripción divulga kits para la realización de pautas terapéuticas de la invención. Dichos kits comprenden en uno o más recipientes cantidades terapéutica o profilácticamente efectivas de los complejos covalentes o no covalentes α 2M en forma farmacéuticamente aceptable. Los complejos de α 2M en un vial de un kit aquí divulgado pueden ser en forma de una solución farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, en combinación con una solución salina estéril, solución de dextrosa o solución tampón, u otro fluido estéril farmacéuticamente

aceptable. Alternativamente, el complejo puede ser liofilizado o deshidratado, en este caso, el kit comprende además opcionalmente en un recipiente una solución farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, solución salina, solución de dextrosa, etc), preferiblemente estéril, para reconstituir el complejo para formar una solución para fines de inyección.

- 5 [0190] En otra realización, un kit divulgado en comprende además una aguja o una jeringa, preferiblemente envasada en forma estéril, para inyectar el complejo, y / o una toallita impregnada en alcohol envasada. Las instrucciones se incluyen opcionalmente para la administración de los complejos de $\alpha 2M$ por un médico o por el paciente.

6. EJEMPLO: SUPRESIÓN Y REDUCCIÓN DE TUMORES

- 10 [0191] Los resultados siguientes muestran que complejos de alfa (2) macroglobulina se pueden purificar intactos a partir de suero de animales portadores de tumor y utilizar para proteger contra el cáncer. Fueron utilizados ratones consanguíneos como un modelo para examinar el efecto de la inmunización con alfa (2) macroglobulina complejada a moléculas antigénicas derivadas de tumores en un desafío posterior con células tumorales en vivo. Los resultados presentados más abajo soportan la invención reivindicada en especial la eficacia de tratamientos autólogos que comprenden administración de complejos alfa (2) macroglobulina aislados de un mamífero que tiene un tumor. Los sistemas inmunes de los ratones endogámicos utilizados son idénticos o casi, de manera que los resultados pueden ser extrapolados a terapias autólogas para el tratamiento del cáncer.

Materiales and Métodos

- 20 [0192] Para purificar complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica, suero de ratones se diluyó 1:1 con 0,04 M Tris pH 7.6, NaCl 0,15 M. La mezcla se aplicó entonces a una columna 65 ml Sephacryl S 300R (Sigma) equilibrada y eluida con el mismo tampón. Se utiliza una columna de 65 ml para unos 10 ml de suero. Fracciones positivas de alfa (2) macroglobulina se determinan por dot blot y el tampón es cambiado a un tampón de fosfato de sodio 0.01 M a pH 7,5 mediante el uso de una columna PD-10. Alternativamente, el buffer de fosfato de sodio 0.01 M a pH 7,5 se puede utilizar como buffer en la columna de 65 ml para eliminar la etapa de intercambio de tampón. Las fracciones que contienen complejos se aplicaron a una columna Concanavalina sefarosa. Los complejos unidos se eluyen con piranósido metilmanosa 0,2 M, o 5% piranósido metilmanosa, y aplicado a una columna PD-10 para cambiar el buffer a buffer de acetato de sodio 0,05 M pH 6,0, y se aplica a una columna de DEAE equilibrada con tampón de acetato de sodio 0,05 M pH 6.0. La alfa (2) macroglobulina se eluyó con tampón de acetato de sodio 0,13 M en forma pura, como analizado por SDS-PAGE e immunoblotting.

- 30 [0193] En algunos experimentos, $\alpha 2M$ fue adquirido de SIGMA. Los ratones BALB/c se obtuvieron de Jackson Labs (Bar Harbor, ME) y se utilizaron a las 6-8 semanas de edad.

- [0194] Con el fin de comprobar si pueden usarse complejos $\alpha 2M$ inmunogénicos como profilaxis contra la formación de tumores, grupos de ratones naive, que consisten de 5 ratones por grupo, a menos que se indique lo contrario, fueron inmunizados con 7 Pg de complejos aislados $\alpha 2M$. Todas las inmunizaciones se realizaron por vía intradérmica en 100 μ l de PBS.

- 40 [0195] Las fuentes de los complejos $\alpha 2M$ - molécula antigénica para inmunizaciones incluyeron: 1) suero de ratones portadores de tumor intradérmica MethA de 2 cm, 2) suero de ratones 24 horas después de inyectar 50% de lejía directamente en el tumor de 2 cm (15 ratones), 3) suero de ratones con ascitis que fue inducida por inyección intraperitoneal de células tumorales vivas (15 ratones), 4) suero de ratones no portadores de tumor, como control negativo; 5) suero de ratones inmunizados con $\alpha 2M$ complejada a Meth A10 (péptidos < 10kDa derivados de lisado tumoral MethA), ya que tales complejos se mostraron anteriormente que protegen frente a un reto con células tumorales Metha (Binder, 2002, Cancer Immunity, supra); 6) suero de ratones inmunizados con gp96 complejo con MethA10, como control positivo, llamado gp96-MethA10, ya que también fue demostrado previamente que protegen frente al reto con células tumorales MethA (Binder, 2002, Cancer Immunity, supra); 7) suero de ratones inmunizados con PBS, como control negativo, llamado PBS1; 8) suero de ratones inmunizados con PBS como un control negativo, llamado PBS2; 9) suero de ratones inmunizados con gp96 derivado de hígado como control negativo, 10) suero de ratones inmunizados con gp96 derivado de MethA, como control positivo, ya que se conocía que gp96 compleja con moléculas antigénicas y estimula la inmunidad (Srivastava et al, 1986, supra.), y 11) suero de ratones inmunizados con células completas tumorales MethA irradiadas para determinar si tales células podrían proporcionar una protección como un control positivo.

- [0196] Los animales fueron luego puestos a prueba por vía intradérmica, con 100.000 células tumorales vivas una semana después de la última inmunización. Los tumores se midieron en dos dimensiones. La mitad de la media se utilizó como el radio del tumor para calcular el volumen del tumor (mm^3). Se realizaron observaciones y los valores se registraron en el día 7, 9, 12, 15 y 18.

55

Resultados

[0197] Los resultados de las inmubizaciones se muestran en la Figura 1 y Tabla 2. Los grupos de control negativo de ratones PBS1 y PBS2 indican que no hay interrupción o reducción del desarrollo del tumor, mientras que los animales que habían sido inmunizados con complejos alfa (2) macroglobulina de animales portadores de tumores mostraron una disminución en el desarrollo de tumores en el día 12. El día 15 son evidentes importantes diferencias en el volumen tumoral entre los grupos de control y los animales inmunizados con complejos alfa (2) macroglobulina derivados de animales portadores de tumor. Complejos aislados de suero de animales con tumor o de suero de ratones con ascitis fueron eficaces para prevenir el crecimiento tumoral en ratones probados. Complejos aislados de ratones portadores de tumores a los que se había inyectado cloro en los tumores para inducir necrosis del tumor exhibieron protección especialmente eficaz, sin volumen observado del tumor más allá de 280 mm³. También se encontró que complejos alfa (2) macroglobulina derivados de suero de ratones portadores de tumores intradérmicos inhibían el crecimiento del tumor con mayor eficacia que los complejos derivados de suero de los ratones con ascitis.

[0198] Alfa (2) macroglobulina de ratones normales no tuvo efecto ni mínimo efecto protector.

TABLA 2

15	PBS						
		0	7	9	12	15	18
	1	0	120.25	117.62	314.63	687.10	715.73
	2	0	43.23	44.43	185.34	263.95	881.90
	3	0	64.83	181.43	167.47	372.05	696.56
20	4	0	204.84	81.27	733.28	764.17	927.17
	5	0	48.01	46.74	230	820.04	1136.55
Células completas							
		0	7	9	12	15	18
25	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0
30	A2M Ascites1						
		0	7	9	12	15	18
	1	0	249.31	328.82	0	0	0
	2	0	32.251	327.10	349.99	369.56	641.11
35	3	0	194.52	303.58	0	0	0
	4	0	201.92	183.38	199.84	353.61	492.56
	5	0	140.10	156.70	0	0	0

ES 2 385 933 T3

		A2M Ascites 2						
		0	7	9	12	15	18	
5	1	0	130.55	232.92	209.93	243.60	387.90	
	2	0	331.13	237.53	0	0	0	
	3	0	95.65		102.90	464.46	950.29	1217.38
	4	0	108.85	83.56		0	0	0
	5	0	91.17		128.38	132.42	234.29	350.59
		A2M Ascites 3						
		0	7	9	12	15	18	
10	1	0	19.76		231.09	160.95	293.33	407.51
	2	0	98.46		130.55	180.275	60.63	143.72
	3	0	139.78	115.32	0	0	0	0
	4	0	139.13	253.64		0	0	0
		A2M Bleach 1						
		0	7	9	12	15	18	
20	1	0	106.66	209.07	56.80	65.02	118.79	
	2	0	104.77		67.60	0	0	0
	3	0	64.44		87.78	25.89	0	0
	4	0	217.27	211.64	0	0	0	0
	5	0	134.00	216.39	0	0	0	0
		A2M Bleach 2						
		0	7	9	12	15	18	
25	1	0	172.29	149.43	0	0	0	
	2	0	192.90	185.34	0	0	0	
	3	0	157.75	280.19	0	0	0	
	4	0	177.21	270.97	0	0	0	
	5	0	86.12		301.95	0	0	0
		A2M Bleach 3						
		0	7	9	12	15	18	
30	1	0	24.72		82.86	180.27	0	0
	2	0	6.97		0	0	0	0

ES 2 385 933 T3

	3	0	60.26		42.05	0	0	0
	4	0	4.38		7.70	0	0	0
	A2M con Tumor 1							
5		0	7		9	12	15	18
	1	0	132.42	136.23	0	0	0	
	2	0	144.72	184.94	0	0	0	
	3	0	243.60	285.39	0	0	0	
	4	0	3.052		93.89	0	0	0
10	5	0	117.33	128.69	0	0	0	
	A2M Non-Tumor Bearing							
		0	7		9	12	15	18
	1	0	149.09	255.58	331.71	507.79	605.82	
15	2	0	103.17	73.37		65.42	0	0
	3	0	123.22	203.17	346.40	527.27	605.82	
	4	0	117.62	297.08	119.96	158.11	220.78	
	5	0	101.84	129.31	249.78	382.78	448.69	
20	Gp96 aislado de células tumorales Meth A							
		0	7		9	12	15	18
	1	0	179.50	140.43	0	0	0	
	2	0	128.69	256.56	0	0	0	
	3	0	190.09	125.94	0	0	0	
25	4	0	0		127.46	0	0	0
	5	0	148.08	91.66		85.65	350.59	523.33
	10 kDa péptido complejo a A2M							
		0	7		9	12	15	18
30	1	0	79.91		98.20	29.06	0	0
	2	0	26.40		117.04	0	0	0
	3	0	170.43	276.07	0	0	0	
	4	0	174.17	266.447	0	0	0	
	5	0	97.43		220.79	0	0	0
35	complejos gp96 aislados de hígado normal							

ES 2 385 933 T3

	0	7	9	12	15	18	
5	1	0	96.41	180.27	399.59	528.85	795.92
	2	0	137.19	274.02	318.56	650.14	795.92
	3	0	150.80	235.68	327.67	503.19	696.56
	4	0	142.40	124.12	305.77	650.14	1022.14
	5	0	140.76	348.79	651.04	893.06	1149.76
	10 kDa péptido complejado a gp96						
	0	7	9	12	15	18	
10	1	0	150.45	168.21	0	0	0
	2	0	223.44	312.96	0	0	0
	3	0	95.14	173.42	0	0	0
	4	0	212.07	138.16	0	0	0
	5	0	145.39	84.72	0	0	0
15	PBS 2						
	0	7	9	12	15	18	
	1	0	213.36	227.47	175.31	305.22	605.82
	2	0	157.05	44.43	362.75	550.48	696.56
	3	0	19.15	181.43	317.44	881.90	1022.14
20	4	0	146.39	81.27	379.61	428.46	605.82
	5	0	73.16	46.74	229.73	806.35	1149.76

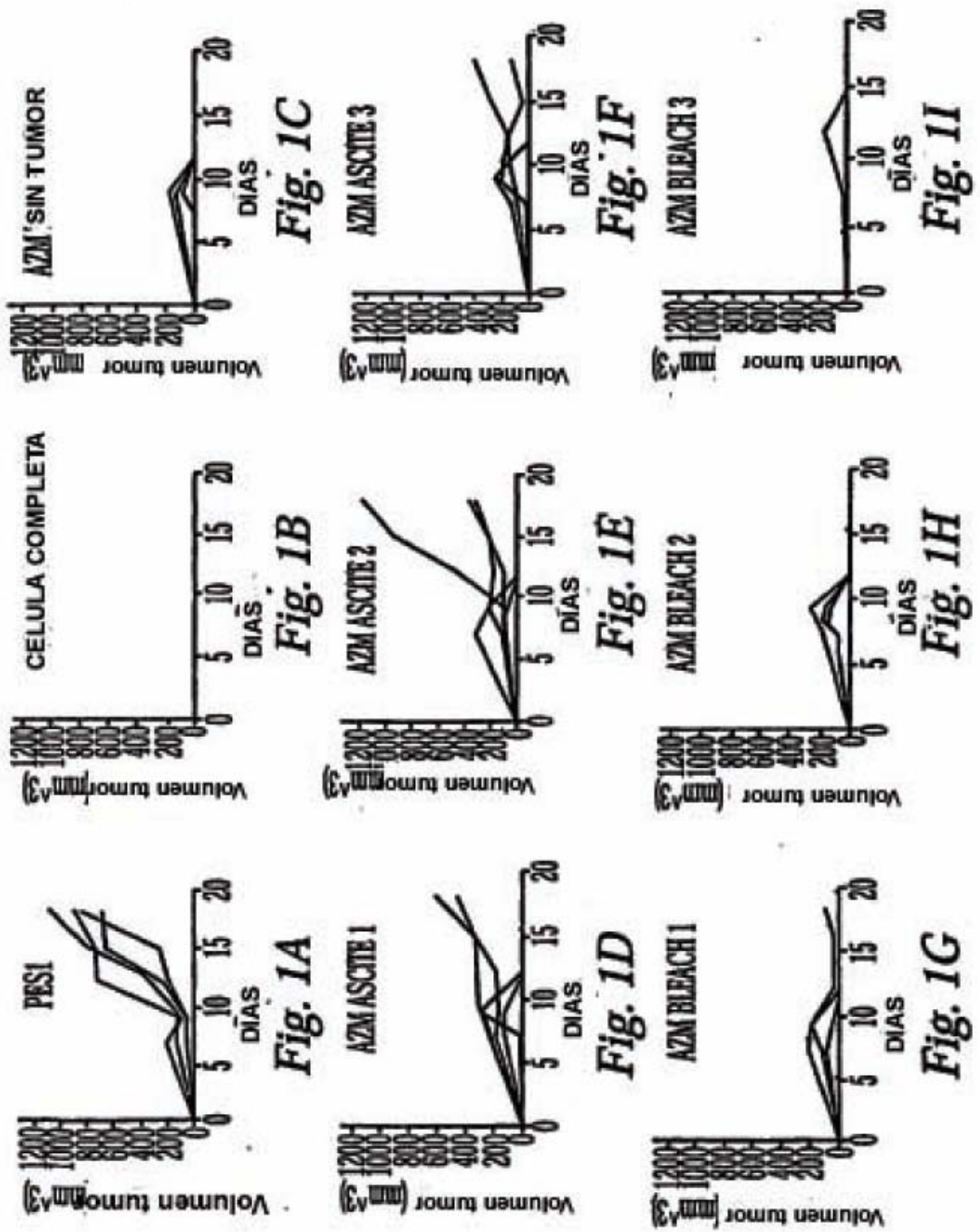
Conclusión

[0199] Los resultados de los experimentos indican que se puede administrar complejos de alfa (2) macroglobulina para tratar o prevenir eficazmente el cáncer. La disminución en el volumen del tumor demuestra un método de tratamiento eficaz. Los efectos profilácticos de la administración de complejos a animales puestos a prueba con células tumorales más tarde es evidente. El grado de eficacia observada en animales a los que se habían administrados complejos derivados de un animal que había sido primero tratado con lejía, lo que causó necrosis de las células tumorales, es particularmente inesperado y prometedor. La necrosis de células tumorales facilita el depósito de moléculas antigénicas específicas para el tumor que luego complejan con alfa (2) macroglobulina en los fluidos corporales.

[0200] La invención no debe ser limitada en su alcance por las realizaciones específicas descritas, que están concebidas como simples ilustraciones de aspectos individuales de la invención, y métodos y componentes funcionalmente equivalentes están dentro del alcance de la invención. Ciertamente, varias modificaciones de la invención, además de las que se muestran y se describen en este documento serán evidentes para los expertos en la materia a partir de la descripción anterior y dibujos que se acompañan. Estas modificaciones están destinadas a entrar en el ámbito de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una composición que comprende complejos purificados alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica que comprende
- 5 (a) Purificar complejos alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica a partir de suero de un paciente que tiene una lesión precancerosa, un tumor canceroso o una enfermedad infecciosa, en donde dichos complejos se encuentran en y se derivan de dicho suero, y en donde dichos complejos comprenden una molécula antigénica que tiene la antigenicidad de dicha lesión precancerosa, dicho tumor canceroso, o dicha enfermedad infecciosa, respectivamente, y
- 10 (b) formular los complejos purificados alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica en un vehículo farmacéuticamente compatible.
2. El método de la reivindicación 1, donde la etapa de purificar los complejos alfa (2) macroglobulina-molécula antigénica de dicho suero comprende:
- 15 (a) poner en contacto una fase sólida que contiene una molécula ligante de alfa (2) macroglobulina con el suero durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión de los complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica con la fase sólida,
- (b) eliminar el material no ligado a la fase sólida, y
- (c) eluir los complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica de la fase sólida.
3. El método de la reivindicación 2, en donde la molécula ligante de alfa (2) macroglobulina es un anticuerpo específico para alfa (2) macroglobulina.
- 20 4. El método de la reivindicación 2, en donde la molécula ligante de alfa (2) macroglobulina es un fragmento de CD91de unión al ligando.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la etapa de purificación comprende el fraccionamiento del suero para enriquecer en complejos alfa (2) macroglobulina - molécula antigénica.
- 25 6. El método de la reivindicación 1, en donde la etapa de purificación comprende usar cromatografía de intercambio aniónico o catiónico.
7. El método de la reivindicación 1, en donde dicha etapa de purificación comprende usar cromatografía de lectina.
8. El método de la reivindicación 1, en donde dicha etapa de purificación comprende usar cromatografía de afinidad.
9. El método de la reivindicación 1, en donde dicha etapa de purificación comprende usar técnicas de separación de unión a filtro.
- 30 10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende además la etapa de poner en contacto el suero con un agente que estimula la formación de enlaces covalentes entre la alfa (2) macroglobulina y las moléculas antigénicas.
11. El método de la reivindicación 10, en donde el agente es una proteasa, amoníaco, metilamina o etilamina.
- 35 12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el vehículo farmacéuticamente compatible es una solución fisiológicamente compatible.
13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde dicho paciente tiene dicho tumor canceroso, y en donde dichos complejos comprenden una molécula antigénica que tiene la antigenicidad de dicho tumor canceroso.
- 40 14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el paciente es humano.



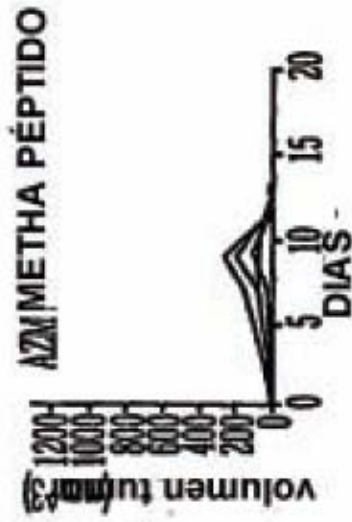


Fig. 1L

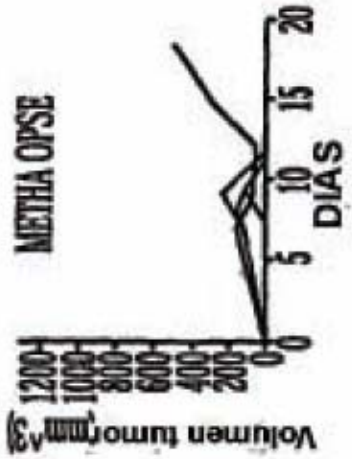


Fig. 1K

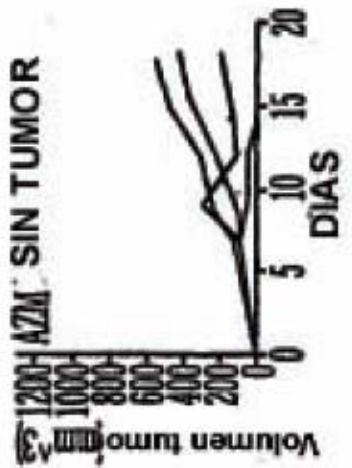


Fig. 1J

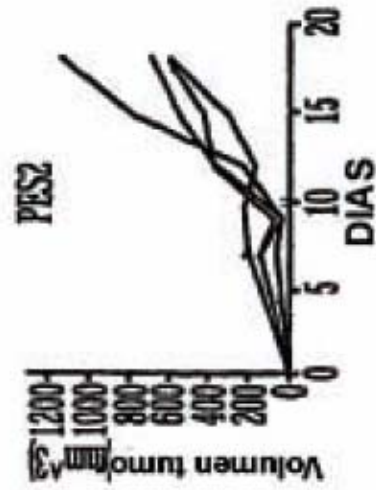


Fig. 1O

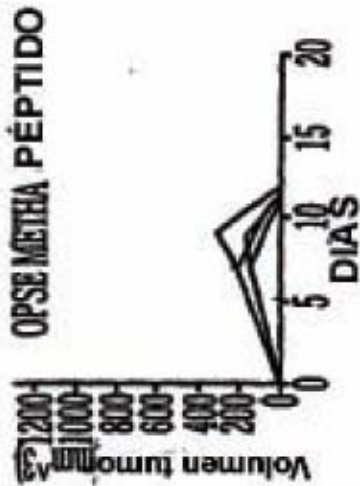


Fig. 1N

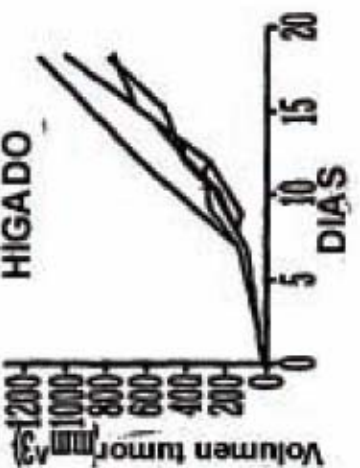


Fig. 1M