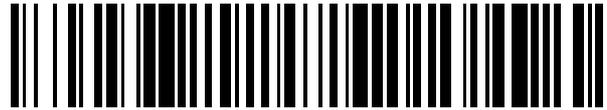


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 419 059**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.05.2007 E 07795008 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.02.2013 EP 2024514**

54 Título: **Evaluación del efecto de un agente en un estado biológico humano usando paneles de expresión génica de roedores**

30 Prioridad:

16.05.2006 US 800802 P

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

19.08.2013

73 Titular/es:

**DXTERITY DIAGNOSTICS INC. (100.0%)
2214 E. Gladwick St.
Rancho Dominguez, CA 90220 , US**

72 Inventor/es:

**BEVILACQUA, MICHAEL;
TRYON, VICTOR;
CHERONIS, JOHN;
BANKAITIS-DAVIS, DANUTE;
STORM, KATHLEEN y
WASSMAN, KARL**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 419 059 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

Evaluación del efecto de un agente en un estado biológico humano usando paneles de expresión génica de roedores.

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere al uso de datos de expresión génica, y en particular al uso de datos de expresión génica para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano usando paneles de expresión génica.

Antecedentes de la invención

- 10 La técnica anterior ha usado datos de expresión génica para determinar la presencia o ausencia de marcadores particulares como diagnóstico de una afección particular, y en algunos casos ha descrito la suma acumulativa de puntuaciones para la sobreexpresión de marcadores de enfermedad particulares para lograr una mayor precisión o sensibilidad del diagnóstico. La información de cualquier afección de un paciente particular y una respuesta del paciente a diferentes tipos y dosificaciones de agentes terapéuticos o nutricionales, se ha convertido en un asunto importante en la medicina clínica actual, no solo desde el aspecto de la eficacia de la práctica médica para la industria del cuidado de la salud, sino para mejores resultados y beneficios para los pacientes.

- 15 Los modelos animales que simulan los estados biológicos en seres humanos se usan a menudo para ensayar la eficacia de nuevos agentes terapéuticos. Sin embargo, muchos agentes fallan en el ensayo animal por razones desconocidas, o solo pueden tratar y/o enmascarar los síntomas en dichos modelos animales, más que la afección biológica subyacente. Por lo tanto, sería beneficioso un método mejorado de uso de modelos animales para predecir la respuesta humana a un agente terapéutico, o su dosificación, a nivel molecular. Esta invención satisface estas necesidades y otras necesidades.

20 El documento WO 03/072827 describe un método para diagnosticar y tratar la artritis reumatoide, analizando las expresiones de ADNc durante diferentes fases de la artritis inducida por colágeno en el ratón.

Overall y Kleinfeld (March 2006) *Nature Reviews Cancer*, Volumen 6, páginas 227 a 239 describen la validación de metaloproteinasas de la matriz como dianas y antidiagnósticos de fármacos para la terapia anticancerígena.

Sumario de la invención

- 25 Una realización de la presente invención se dirige a un método para identificar un panel de expresión génica distintivo de roedor para usar en la evaluación de un agente en un estado biológico humano de interés. En esta realización, el método incluye identificar un panel de expresión génica para seres humanos con respecto al cual los niveles de expresión de los constituyentes son indicativos del estado biológico de interés. La realización también incluye después evaluar en una población de roedores los genes constituyentes del panel de expresión génica identificado, para determinar que constituyentes son indicativos del estado biológico de interés tanto en seres humanos como en roedores, en el que un conjunto de constituyentes que se ha determinado que es indicativo constituye el panel distintivo. En algunas realizaciones, el panel de expresión génica distintivo identificado comprende una pluralidad de constituyentes de cualquiera de las tablas 1-9, descritas a continuación.

- 35 Otra realización de la invención proporciona un método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano de interés, basado en una muestra de un sujeto roedor al que se le ha administrado el agente. En esta realización, la muestra proporciona una fuente de ARN, y la realización incluye determinar un panel distintivo para roedores. Los constituyentes del panel distintivo corresponden a constituyentes de un panel de expresión génica humano, en el que la medida de los constituyentes del panel distintivo permite la medida del estado biológico del sujeto roedor, y las medidas de los constituyentes del panel humano permiten la medida del estado biológico humano. La realización también incluye obtener de la muestra de roedor un primer conjunto de datos de perfil que incluye una pluralidad de miembros, siendo cada miembro una medida cuantitativa de la cantidad de un ARN distinto constituyente del panel distintivo. Finalmente, la realización incluye producir un conjunto de datos de perfil calibrado para el panel distintivo, en el que cada miembro del conjunto de datos de perfil calibrado es una función de un miembro correspondiente del primer conjunto de datos de perfil y un miembro correspondiente de un conjunto de datos de perfil de referencia de roedor para el panel distintivo, en el que cada miembro del conjunto de datos de perfil de referencia del roedor es una medida normativa, determinada con respecto a una población relevante de roedores, de la cantidad de uno de los constituyentes en el panel distintivo, proporcionando el conjunto de datos de perfil calibrado una evaluación del efecto del agente en el estado biológico humano, en el que las medidas de cada constituyente se llevan a cabo en condiciones de medida que son sustancialmente repetibles. Las condiciones de medida son repetibles de modo que la medida para cada constituyente tiene un coeficiente de variación, en la obtención repetida de dicha medida de la muestra, que es menos de aproximadamente 10%, preferiblemente menos de aproximadamente 5%, más preferiblemente menos de aproximadamente 2%.

- 55 En una realización de la invención, el estado biológico humano que se va a evaluar es una forma de artritis, incluyendo sin limitación, la artritis reumatoide.

5 En una realización preferida, el método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano de interés se realiza usando la amplificación para medir la cantidad de ARN de todos los constituyentes del panel distintivo, y las eficacias de la amplificación (expresadas como porcentaje) para todos los constituyentes son sustancialmente similares. En una realización preferida, las eficacias de la amplificación para todos los constituyentes son sustancialmente similares si difieren en no más de 10%, preferiblemente no más de 5%, más preferiblemente no más de 3%, incluso más preferiblemente no más de 1%.

10 En una realización, el panel distintivo usado en el método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano comprende una pluralidad de constituyentes de una cualquiera de las tablas 1-9, descritas a continuación. En otras realizaciones, el panel distintivo usado en el método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano comprende una pluralidad de constituyentes seleccionados del grupo que consiste en CASP3, CD14, CSPG2, HSPA1A, ICAM1, IL1B, IL1RN, MEF2C, MMP9, SERPINE1, TGFB1 y TLR2.

15 En otras realizaciones relacionadas, la invención proporciona un panel de expresión génica distintivo de roedor (panel distintivo) que comprende los constituyentes CASP3, CD14, CSPG2, HSPA1A, ICAM1, IL1B, IL1RN, MEF2C, MMP9, SERPINE1, TGFB1 y TLR2. Otra realización de la invención proporciona un panel de expresión génica distintivo de roedor (panel distintivo) que comprende una pluralidad de constituyentes de cualquiera de las tablas 1-9, descritas a continuación, o de cualquiera específico de las tablas 1-9.

Breve descripción de los dibujos

Las características anteriores de la invención se entenderán más fácilmente por referencia a la siguiente descripción detallada, tomando como referencia los dibujos que acompañan, en los que:

20 Las figuras 1A-1C muestran la respuesta en sangre entera estimulada con LPS a las 1,5 h (grupo 1), 4 h (grupo 2) y 24 h (grupo 3), respectivamente, en tres grupos de ratones macho Swiss Webster para un panel de 24 genes.

Las figuras 2A-2C muestran la respuesta en sangre entera estimulada con LPS + dexametasona a las 1,5 h (grupo 4), 4 h (grupo 5) y 24 h (grupo 6), respectivamente, en tres grupos de ratones Swiss Webster macho para un panel de 24 genes.

25 La figura 3 muestra la respuesta en sangre entera estimulada con LPS a las 1,5 h, 4 h y 24 h, respectivamente, como media para los grupos 1, 2 y 3 de ratones macho Swiss Webster para un panel de 24 genes.

La figura 4 muestra la respuesta en sangre entera estimulada con LPS a las 1,5 h, 4 h y 24 h, respectivamente, como media para los grupos 4, 5 y 6 de ratones macho Swiss Webster para un panel de 24 genes.

30 Las figuras 5A-5C muestran una comparación de la respuesta en sangre entera estimulada con LPS en sujetos humanos y murinos in vivo, a las 2 y 1,5 h, respectivamente, para 17 genes.

Las figuras 6A-6C muestran una comparación de la respuesta en sangre entera estimulada con LPS en sujetos humanos in vitro, a las 2 y 1,5 h, respectivamente, para 38 genes.

35 Las figuras 7A-7C muestran una comparación de la respuesta en sangre entera estimulada con LPS en sujetos humanos (in vitro) y murinos (in vivo), a las 2 y 1,5 h, respectivamente, para los mismos 17 genes de las figuras 5A-5C.

Las figuras 8A-8C muestran una comparación de la respuesta a la dexametasona en sangre entera estimulada con LPS en sujetos humanos (in vitro) y murinos (in vivo), a las 2 y 1,5 h, respectivamente, para los mismos 17 genes de las figuras 5A-5C y 7A-7C.

40 Las figuras 9A-9C muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos que no han recibido tratamiento previo ("normales") individuales el día 60 con respecto a las respuestas medias el día 0 (valor de referencia, animales 1-6) en un estudio de CIA usando ratones macho DBA/1. El análisis de la expresión génica se realizó por QPCR usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide.

45 Las figuras 10A-10C muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos que no han recibido tratamiento previo ("normales") individuales el día 21 con respecto a las respuestas medias el día 0 (animales que no han recibido tratamiento previo 1-6) en un estudio de KRN usando ratones hembra BALB/c. El análisis de expresión génica se realizó usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide.

50 Las figuras 11A-11E muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos individuales de la evolución de la enfermedad el día 24 (no tratado), y los días 33, 42 y 60 (tratados con vehículo) con respecto a la respuesta de referencia media de sujetos murinos que no han recibido tratamiento previo el día 0 (n=6) en un estudio de CIA usando ratones macho DBA/1. El análisis de expresión génica se realizó usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide; las figuras 11F y 11G muestran una comparación de respuestas de genes diana seleccionados en la artritis inducida por colágeno en ratones macho

DBA/1 respecto a sujetos humanos con RA (un solo tiempo de medida, inestable en el valor de referencia, n=10).

- 5 Las figuras 12A-12E muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos individuales de la evolución de la enfermedad el día 3 (no tratados), y los días 7, 14 y 21 (tratados con vehículo) con respecto a la respuesta de referencia media de sujetos murinos que no han recibido tratamiento previo el día 0 (n=6) en un estudio de KRN usando ratones hembra BALB/c. El análisis de expresión génica se realizó usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide; las figuras 12F y 12G muestran una comparación de respuestas de genes diana seleccionados en el modelo de artritis inducida por transferencia de suero (KRN) usando en ratones hembra BALB/c respecto a sujetos humanos con RA (un solo tiempo de medida, inestable en el valor de referencia, n=10).
- 10 Las figuras 13A-13E muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos individuales al tratamiento con dexametasona los días 33, 42 y 60, con respecto a las respectivas respuestas medias de sujetos murinos tratados con vehículo los días 33, 42 y 60 en un estudio de CIA usando ratones macho DBA/1. El análisis de expresión génica se realizó usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide.
- 15 Las figuras 14A-14E muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos individuales al tratamiento con vehículo o dexametasona el día 60 con respecto a las respuestas medias de sujetos murinos no tratados, que no han recibido tratamiento previo, el día 60 en un estudio de CIA usando ratones macho DBA/1. El análisis de expresión génica se realizó usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide.
- 20 Las figuras 15A-15E muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos individuales al tratamiento con dexametasona los días 7, 14 y 21 con respecto a las respectivas respuestas medias de sujetos murinos tratados con vehículo, los días 7, 14 y 21 en un modelo de artritis inducida por transferencia de suero (KRN) usando ratones hembra BALB/c. El análisis de expresión génica se realizó usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide.
- 25 Las figuras 16A-16E muestran una comparación de las respuestas de la expresión génica de sujetos murinos individuales al tratamiento con vehículo o dexametasona el día 21 con respecto a las respuestas medias en sujetos murinos no tratados, que no han recibido tratamiento previo, el día 21 en un modelo de artritis inducida por transferencia de suero (KRN) usando ratones hembra BALB/c. El análisis de expresión génica se realizó usando un panel de 40 genes murinos a medida (Precision Profile™) para la artritis reumatoide.

30 **Descripción detallada de la invención**

Definiciones

Los siguientes términos tendrán los significados indicados salvo que el contexto requiera otra cosa:

- 35 "Algoritmo" es un conjunto de reglas para describir un estado biológico. El conjunto de reglas puede estar definido exclusivamente de forma algebraica pero también puede incluir puntos de decisión alternativos o múltiples que requieren el conocimiento específico de la materia, la interpretación de expertos u otros indicadores clínicos.

Un "agente" es una "composición" o un "estímulo", como se definen estos términos en la presente memoria, o una combinación de una composición y un estímulo.

- 40 "Amplificación" en el contexto de un ensayo de RT-PCR cuantitativo es una función del número de replicaciones de ADN que se siguen para proporcionar una determinación cuantitativa de su concentración. "Amplificación" aquí se refiere a un grado de sensibilidad y especificidad de una técnica de ensayo cuantitativo. Por consiguiente, la amplificación proporciona una medida de concentraciones de los constituyentes, que se evalúa en condiciones en las que la eficacia de la amplificación y por lo tanto el grado de sensibilidad y reproducibilidad para la medida de todos los constituyentes, son sustancialmente similares.

- 45 Un "conjunto de datos de perfil de referencia" es un conjunto de valores asociados con los constituyentes de un panel de expresión génica, que resulta de la evaluación de una muestra biológica (o población o conjunto de muestras) en un estado biológico deseado, que se usa para propósitos de normalización matemática. El estado biológico deseado puede ser, por ejemplo, el estado de un sujeto (o población o conjunto de sujetos) antes de la exposición a un agente o en presencia de una enfermedad no tratada o en ausencia de una enfermedad. Alternativamente, o además, el estado biológico deseado puede ser la salud de un sujeto o una población o conjunto de sujetos. Alternativamente, o además, el estado biológico deseado puede ser aquel asociado con una población o conjunto de sujetos seleccionados basándose en al menos uno de grupo de edad, género, etnia, localización geográfica, historia nutricional, afección médica, indicador clínico, medicación, actividad física, masa corporal y exposición medioambiental.

- 55 Un "estado biológico" de un sujeto es un estado del sujeto en un ámbito pertinente que está en observación, y dicho ámbito puede incluir cualquier aspecto del sujeto del que se pueda hacer el seguimiento de cambio en el estado, tal

- como la salud; enfermedad que incluye inflamación y cáncer; traumatismo; envejecimiento; infección; degeneración tisular; etapas del desarrollo; aptitud física; obesidad; y estado de ánimo. Como puede verse, un estado en este contexto puede ser crónico o agudo o simplemente transitorio. Además, un estado biológico diana se puede manifestar por todo el organismo o población de células o puede estar restringido a un órgano específico (tal como piel, corazón, ojos o sangre), pero en cualquier caso, el estado se puede seguir directamente mediante una muestra de la población de células afectada o indirectamente por una muestra obtenida de otra parte del sujeto. La expresión "estado biológico" incluye un "estado fisiológico".
- 5 El "fluido corporal" de un sujeto incluye sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, linfa, secreciones mucosas, líquido prostático, semen, hemolinfa o cualquier otro fluido corporal conocido en la técnica para un sujeto.
- 10 "Conjunto de datos de perfil calibrado" es una función de un miembro de un primer conjunto de datos de perfil y un miembro correspondiente de un conjunto de datos de perfil de referencia para un constituyente dado en un panel.
- Un "indicador clínico" es cualquier dato fisiológico usado solo o junto con otros datos en la evaluación del estado biológico de una colección de células o de un organismo. Este término incluye indicadores preclínicos.
- 15 Una "composición" incluye un compuesto químico, un producto nutricional, un producto farmacéutico, una formulación homeopática, una formulación alopática, una formulación naturopática, una combinación de compuestos, una toxina, un alimento, un complemento alimenticio, un mineral y una mezcla compleja de sustancias, en cualquier estado físico o en una combinación de estados físicos. Los ejemplos de una "composición" incluyen, sin limitación, un aptámero, ARNip, un agente molecular pequeño, un oligodesoxinucleótido antisentido, un anticuerpo monoclonal, un agente esteroideo, un agente antiinflamatorio no esteroideo, un agente alquilante, un antimetabolito,
- 20 un alcaloide de la vinca, un taxano, una antraciclina, un inhibidor de topoisomerasa, un fotosensibilizador, un inhibidor de tirosina quinasa, un inhibidor del receptor del factor de crecimiento epidérmico, un inhibidor de la FPTasa, un inhibidor de proteosomasa, un inhibidor de la síntesis de TS/DNA, un inhibidor de la S-adenosil-metionina descarboxilasa, un agente de metilación de ADN, un agente de unión de ADN e inmunoterapia tumoral.
- "Obtener" un conjunto de datos de perfil de una muestra incluye determinar un conjunto de valores asociados con los constituyentes de un panel de expresión génica (i) por medida indirecta de dichos constituyentes en una muestra biológica o (ii) por medida de dichos constituyentes en una segunda muestra biológica que se ha expuesto a la muestra original o a materia obtenida de la muestra original.
- 25 Un "ARN o constituyente proteínico distinto" en un panel de constituyentes es un producto expresado distinto de un gen, sea ARN o proteína. Un producto de "expresión" de un gen incluye el producto génico sea ARN o proteína que resulta de la traducción del ARN mensajero.
- 30 Un "panel de expresión génica" (Precision Profile™) es un conjunto de constituyentes verificado experimentalmente, siendo cada constituyente un producto expresado distinto de un gen, sea ARN o proteína, en el que los constituyentes del conjunto se seleccionan de modo que su medida proporciona una medida de la afección biológica diana.
- 35 Un "perfil de expresión génico" es un conjunto de valores asociados con constituyentes de un panel de expresión génico que resulta de evaluar una muestra biológica (o población o conjunto de muestras).
- Un "índice inflamatorio del perfil de expresión génica" es el valor de una función índice que proporciona un mapa de un caso de un perfil de expresión génica en una medida de un solo valor de la afección inflamatoria.
- 40 La "salud" de un sujeto incluye el estado mental, emocional, físico, espiritual, alopático, naturopático y homeopático del sujeto.
- "Índice" es una característica numérica obtenida aritmética o matemáticamente desarrollada para ayudar a simplificar o describir o informar del análisis de información cuantitativa más compleja. Un índice de enfermedad o población se puede determinar por aplicación de un algoritmo específico a una pluralidad de sujetos o muestras con un estado biológico común.
- 45 "Inflamación" se usa en la presente memoria en el sentido médico general de la palabra y puede ser una respuesta aguda o crónica; simple o supurante; localizada o diseminada; celular y tisular iniciada o sostenida por cualquier número de agentes químicos, físicos o biológicos o combinación de agentes.
- "Estado inflamatorio" se usa para indicar el estado biológico relativo de un sujeto que resulta de la inflamación, o que caracteriza el grado de inflamación.
- 50 Un "gran número" de conjuntos de datos basados en un panel común de genes es un número de conjuntos de datos suficientemente grande para permitir extraer una conclusión estadísticamente significativa con respecto a un caso de un conjunto de datos basado en el mismo panel.
- Un sujeto "normal" es un sujeto al que no se le ha diagnosticado un estado biológico, tal como una enfermedad, o uno que no padezca un estado biológico, tal como una enfermedad.

Un estado "normativo" de un sujeto al que se le va a administrar una composición, significa el estado de un sujeto antes de la administración, incluso si el sujeto padece una enfermedad.

Un "panel" de genes es un conjunto de genes que incluye al menos dos constituyentes.

5 Una "población de células" se refiere a cualquier grupo de células en el que hay una concordancia o relación subyacente entre los miembros en la población de células, incluyendo un grupo de células tomadas de un organismo o de un cultivo de células o de una biopsia, por ejemplo.

10 Una "muestra" de un sujeto puede incluir una sola célula o múltiples células o fragmentos de células o una parte alícuota de fluido corporal tomado del sujeto, por medios que incluyen venopunción, excreción, eyaculación, masaje, biopsia, aspiración con aguja, lavado de muestra, raspado, incisión o intervención quirúrgica u otros medios conocidos en la técnica.

Un "conjunto" o "población" de muestras o sujetos se refieren a un grupo definido o seleccionado de muestras o sujetos en el que hay una concordancia o relación subyacente entre los miembros incluidos en el conjunto o población de muestras o sujetos.

15 Un "perfil distintivo" es un subconjunto experimentalmente verificado de un perfil de expresión génica seleccionado para discriminar un estado biológico, agente o mecanismo fisiológico de acción.

Un "panel distintivo" es un subconjunto del panel de expresión génica (Precision Profile™), cuyos constituyentes se seleccionan para permitir discriminar un estado biológico, agente o mecanismo fisiológico de acción.

20 Un "sujeto" es una célula, tejido u organismo, humano o no humano, sea in vivo, ex vivo o in vitro, en observación. Como se usa en la presente memoria, la referencia a evaluar el estado biológico de un sujeto basándose en una muestra del sujeto, incluye usar sangre u otra muestra de tejido de un sujeto humano para evaluar el estado del sujeto humano; también incluye, por ejemplo, usar la propia muestra de sangre como sujeto para evaluar, por ejemplo, el efecto de la terapia o un agente en la muestra. También está incluido en la definición el uso de sangre u otra muestra de tejido de un ser humano u otro animal para evaluar un estado del ser humano o animal en un órgano distinto de la sangre o en un dominio fisiológico específico o tejido distinto de la sangre.

25 Un "estímulo" incluye (i) una interacción física con un sujeto seguida, por ejemplo, terapia con radiación ultravioleta A o B, o fototerapia para el trastorno afectivo estacional, o tratamiento de la psoriasis con psoraleno o tratamiento del cáncer con semillas radiactivas implantadas, exposición a otra radiación, y (ii) cualquier actividad física, mental, emocional o espiritual o inactividad de un sujeto que se sigue.

30 "Terapia" incluye todas las intervenciones biológicas, químicas, físicas, metafísicas, o combinaciones de las anteriores, dirigidas a mantener o alterar el estado biológico que se sigue de un sujeto.

35 Las patentes de Estados Unidos 6.960.439 y 6.964.850, tituladas cada una "Identification, Monitoring and Treatment of Disease and Characterization of Biological Condition Using Gene Expression Profiles," y cedidas a Source Precision Medicine, Inc., que se incorporan en la presente memoria por referencia en su totalidad, describen el uso de paneles de expresión génica para evaluar (i) un estado biológico (incluyendo con respecto a la salud y la enfermedad) y (ii) el efecto de uno o más agentes en un estado biológico (incluyendo con respecto a la salud, toxicidad, tratamiento terapéutico e interacción de fármacos). Estas patentes describen la idea sin precedentes de que se encuentran niveles normales de expresión génica asociados con la inflamación en poblaciones de seres humanos sanos, y la desviación de estos niveles normales de expresión en sujetos individuales son indicativas de la desviación de la salud. Estas patentes muestran que cambios hacia o desde dichos niveles normales son indicativos de cambios hacia o desde el estado sano, y por lo tanto estos paneles de expresión génica se pueden usar para el seguimiento y evaluación del tratamiento de un estado biológico, que deriva, por ejemplo, de una enfermedad. (Las observaciones que dan lugar a esta visión proceden de medidas de expresión génica hechas en condiciones que son sustancialmente repetibles y que tienen, por ejemplo, un coeficiente de variación medio de variabilidad intraensayo o variabilidad interensayos menor de 20%, más preferiblemente menor de 10%, más preferiblemente menor de 5%, más preferiblemente menor de 4%, más preferiblemente menor de 3%, más preferiblemente menor de 2% e incluso más preferiblemente menor de 1%).

40 Sorprendentemente se ha descubierto que la expresión génica en roedores, cuando se mide en condiciones que son sustancialmente repetibles, presenta características análogas a la expresión génica en seres humanos cuando se mide en condiciones que son sustancialmente repetibles. En particular, los niveles normales de expresión génica asociados con la inflamación aparecen en poblaciones sanas tanto de seres humanos como de roedores, y las desviaciones de estos niveles normales de expresión en sujetos individuales son indicativas de la desviación de la salud. Los cambios hacia o desde dichos niveles normales en roedores así como en seres humanos son indicativos de cambios hacia o desde la salud, y permiten el seguimiento y tratamiento del estado biológico que deriva, por ejemplo, de una enfermedad.

55 Además los autores de la invención han encontrado que estas ideas de la expresión génica se pueden usar para hacer que los roedores sean modelos mucho más eficaces para seres humanos en relación con la evaluación del

tratamiento de la enfermedad. En particular, un panel de expresión génica en un contexto de roedores se puede usar para evaluar el efecto de un agente en el tratamiento de un estado biológico humano cuando el panel de expresión génica de roedor se selecciona con la metodología adecuada. La selección de la metodología para el panel de expresión génica de roedor requiere la identificación de genes en roedores que respondan de forma similar a los correspondientes genes en seres humanos con respecto a la expresión en el contexto de un estado biológico dado. A continuación se dan ejemplos de esto.

Además, las patentes de Estados Unidos 6.960.439 y 6.964.850 describen el uso de índices para caracterizar un estado de salud o enfermedad. Los índices se pueden usar en el contexto de roedores para caracterizar el estado de salud o enfermedad en el roedor con el propósito de evaluar el efecto del agente, primero en el roedor, y segundo como un pronosticador del efecto del agente en seres humanos. En particular, los índices se pueden usar en el contexto de roedores para predecir la eficacia terapéutica de composiciones naturales o sintéticas o estímulos en seres humanos, que se pueden formular individualmente o en combinaciones o mezclas para una variedad de estados biológicos diana; predicción de efectos toxicológicos y eficacia de la dosis de una composición o mezcla de composiciones para un individuo o para una población o conjunto de individuos o para una población de células; determinación de cómo dos o más agentes diferentes administrados en un solo tratamiento pueden interactuar para así predecir cualquiera de una actividad sinérgica, aditiva, negativa, neutra o tóxica en seres humanos; y llevar a cabo estudios de dosificación preliminares para estos pacientes antes de llevar a cabo los ensayos de fase 1 ó 2. Con respecto a esto, se pueden usar índices en el contexto de ratones como se describe a continuación en el contexto humano.

El término "agente" como se usa en la presente memoria se ha definido antes. Un agente puede ser, por ejemplo, sin limitación, un fármaco o producto nutracéutico propuesto para el tratamiento de una enfermedad. Sin embargo, en el contexto de roedores como se describe en la presente memoria, se puede usar no solo simplemente para hacer el modelo y evaluar la eficacia a corto y largo plazo de un fármaco u otro agente, sino también para hacer el modelo y evaluar la potencial toxicidad, efectos secundarios y contraindicaciones de un fármaco u otro agente. Además, el modelo de roedor puede ser útil para evaluar los efectos del agente en subpoblaciones, tales como las basadas en edad, género, embarazo, o estado de sistema inmunocomprometido.

De acuerdo con realizaciones de la presente memoria, un modelo de roedor para un estado biológico dado se puede desarrollar usando una estrategia de "Modelo animal diseñado a la inversa" (MADI). De acuerdo con la estrategia MADI, los procedimientos son los siguientes:

1. Identificar un panel de expresión génica para seres humanos que proporcione los niveles de expresión que son indicativos del estado biológico de interés;

2. Evaluar en una población de roedores los genes del panel de expresión génica identificados en el procedimiento (1) para determinar que constituyentes son indicativos del estado biológico de interés tanto en seres humanos como en roedores. Estos constituyentes constituyen un panel distintivo en roedores que se puede usar para evaluar el efecto de un agente en el estado biológico de interés. La evaluación de un agente para el tratamiento de un estado biológico incluye identificar agentes adecuados para el tratamiento del estado biológico de interés. Por adecuado para el tratamiento se entiende determinar si el agente será eficaz, no eficaz o tóxico para un sujeto o individuo de ensayo particular. Por tóxico se entiende la manifestación de uno o más efectos adversos de un fármaco cuando se administran de forma terapéutica. Por ejemplo, un fármaco es tóxico cuando afecta a una o más rutas fisiológicas normales.

Por consiguiente, los métodos descritos en la presente memoria permiten ensayar un supuesto producto terapéutico o profiláctico en una muestra de roedor con el fin de determinar si el agente es adecuado para tratar o prevenir un estado biológico de interés en un sujeto humano. Los agentes pueden ser compuestos conocidos para tratar el estado biológico de interés o agentes nuevos que no se ha mostrado previamente que traten el estado biológico de interés.

El efecto de un agente en un estado biológico de interés se evalúa determinando el nivel de expresión (p. ej., una medida cuantitativa) de uno o más genes relevantes en el panel distintivo de roedor. El nivel de expresión se determina por cualquier medio conocido en la técnica, tal como por ejemplo la PCR cuantitativa. La medida se obtiene en condiciones que son sustancialmente repetibles, como se describe a continuación. Opcionalmente, se compara la medida cualitativa del constituyente con un nivel de referencia (p. ej. conjunto de datos de perfil de referencia). Un nivel de referencia es un nivel de expresión del constituyente en uno o más sujetos que se sabe que no padecen el estado biológico de interés (p. ej., sujeto(s) sano(s), normal(es)).

Para identificar un producto terapéutico que es adecuado para un sujeto humano, se expone una muestra de ensayo de un sujeto roedor a un agente terapéutico candidato, y se determina la expresión de uno o más genes indicativos del estado biológico de interés tanto en seres humanos como en roedores (denominado panel distintivo en roedores, descrito antes). La muestra de roedor se incuba en presencia de un agente candidato y se mide el patrón de expresión génica en la muestra de ensayo del roedor y se compara con una muestra de referencia, p. ej., un perfil de referencia para el estado biológico de interés, o un valor de índice. El agente de ensayo puede ser cualquier compuesto o composición. Una similitud en el patrón de expresión génica de la muestra de ensayo de roedor

comparada con una muestra de referencia indica que se predice que el tratamiento será eficaz en un sujeto humano. Mientras que un cambio en el patrón de expresión génica en la muestra de ensayo comparada con la muestra de referencia indica un resultado clínico o pronóstico menos favorable en un sujeto humano.

5 Por "eficaz" se entiende que el tratamiento conduce a una disminución de un signo o síntoma del estado biológico de interés en el sujeto o a un cambio en el patrón de expresión de uno o más genes indicativos del estado biológico, de modo que el patrón de expresión génica aumenta su similitud con un patrón de expresión génica de referencia normal. La evaluación del estado biológico de interés se hace usando protocolos clínicos habituales. La eficacia se determina en colaboración con cualquier método conocido para diagnosticar o tratar el estado biológico de interés.

10 Los paneles de expresión génica de seres humanos y roedores (Precision Profile™) y paneles distintivos se seleccionan de modo que la medida cuantitativa de los constituyentes ARN o proteínas en el panel constituye una medida de un estado biológico de un sujeto. En un tipo de disposición, se usa un conjunto de datos de perfil calibrado. Cada miembro del conjunto de datos de perfil calibrado es una función de (i) una medida de un constituyente distinto de un panel de expresión génica (Precision Profile™) y (ii) una cantidad de referencia.

15 Se ha descubierto que se pueden lograr resultados valiosos e inesperados cuando la medida cuantitativa de los constituyentes se realiza en condiciones repetibles (dentro de un grado de repetibilidad de la medida menor que 20 por ciento, y preferiblemente 10 por ciento o mejor, más preferiblemente 5 por ciento o mejor, y más preferiblemente 3 por ciento o mejor). Para los propósitos de esta descripción y las siguientes reivindicaciones, un grado de repetibilidad de la medida mejor de 20 por ciento proporciona condiciones de medida que son "sustancialmente repetibles". En particular, se desea que cada vez que se obtenga una medida correspondiente al nivel de expresión
20 de un constituyente en una muestra particular, debería resultar sustancialmente la misma medida para sustancialmente el mismo nivel de expresión. De esta forma, los niveles de expresión para un constituyente en un panel de expresión génica (Precision Profile™) se pueden comparar de manera significativa de una muestra a otra. Incluso aunque las medidas del nivel de expresión para un constituyente particular sean imprecisas (por ejemplo, 30% demasiado bajas), el criterio de repetibilidad significa que todas las medidas para este constituyente, si son
25 sesgadas, serán, no obstante, sesgadas sistemáticamente, y por lo tanto las medidas del nivel de expresión del constituyente se pueden comparar de forma significativa. De esta forma se puede obtener información valiosa y comparar la expresión pertinente del constituyente en diferentes circunstancias.

Además del criterio de repetibilidad, es deseable que se satisfaga también un segundo criterio, en concreto que la
30 medida cuantitativa de los constituyentes se realice en condiciones en las que las eficacias de la amplificación para todos los constituyentes sean sustancialmente similares como se define en la presente memoria. Cuando se satisfacen ambos criterios, entonces la medida del nivel de expresión de un constituyente se puede comparar de forma significativa con la medida del nivel de expresión de otro constituyente en una muestra dada y de una muestra a otra.

35 Realizaciones adicionales se refieren al uso de un índice o algoritmo que resulta de la medida cuantitativa de constituyentes y además opcionalmente obtenido de análisis experto o mediante biología computacional, (a) en el análisis de conjuntos de datos complejos; (b) para controlar o normalizar la influencia de variaciones que son poco informativas o de otra forma poco importantes, en los valores de expresión génica entre muestras o sujetos; (c) para simplificar la caracterización de un conjunto de datos complejo para la comparación con otros conjuntos de datos complejos, bases de datos o índices o algoritmos derivados de los conjuntos de datos complejos; (d) para el
40 seguimiento de un estado biológico de un sujeto; (e) para medir la eficacia terapéutica de composiciones naturales o sintéticas o estímulos, que pueden formularse de forma individual o en combinaciones o mezclas para una variedad de estados biológicos diana; (f) para predecir efectos toxicológicos y eficacias de dosis de una composición o mezcla de composiciones para un individuo o para una población o conjunto de individuos o para una población de células; (g) para determinar cómo dos o más agentes diferentes administrados en un solo tratamiento pueden interactuar, para así detectar cualquier actividad sinérgica, aditiva, negativa, neutra o tóxica; (h) para realizar ensayos preclínicos y clínicos proporcionando nuevos criterios para preseleccionar sujetos de acuerdo con conjuntos de datos de perfil
45 informativos, para poner de manifiesto estados patológicos y llevar a cabo estudios de dosificación preliminares para estos pacientes antes de llevar a cabo los ensayos de fase 1 o 2.

50 El perfil de expresión génica y el uso de la caracterización de índices para un estado o agente particular, o ambos, se pueden usar para reducir el coste de los ensayos clínicos de fase 3, y se pueden usar más allá de los ensayos de fase 3; para marcaje para fármacos aprobados; selección de medicación adecuada de una clase de medicamentos para un paciente particular que se dirige a su fisiología única; diagnosticar o determinar un pronóstico de una afección médica o una infección que puede preceder al inicio de síntomas o alternativamente diagnosticar efectos secundarios adversos asociados con la administración de un agente terapéutico; gestionar la asistencia sanitaria de un paciente; y controlar la calidad de diferentes lotes de un agente o una mezcla de agentes.
55

El sujeto.

Los métodos descritos aquí se pueden aplicar a células de seres humanos, mamíferos u otros organismos sin necesidad de experimentación excesiva por el experto en la técnica, porque todas las células transcriben ARN y se sabe en la técnica cómo extraer el ARN de todos los tipos de células. Un sujeto puede incluir aquellos a los que no

5 se les ha diagnosticado previamente un estado biológico, o aquellos en los que no se ha inducido un estado biológico, tal como una enfermedad. Alternativamente, un sujeto también puede incluir aquellos a los que ya se les ha diagnosticado un estado biológico, o aquellos en los que se ha inducido un estado biológico, tal como una enfermedad. Opcionalmente, el sujeto se ha tratado previamente con un agente terapéutico. Un sujeto también puede incluir aquellos que padecen, o están en riesgo de desarrollar un estado biológico.

Selección de constituyentes de un panel de expresión génica

10 La metodología general para seleccionar constituyentes de un panel de expresión génica (Precision Profile™) se ha descrito en la publicación de la solicitud PCT número WO01/25473, incorporada en la presente memoria en su totalidad. Se ha diseñado y validado experimentalmente una amplia variedad de paneles de expresión génica (Precision Profile™), proporcionando cada panel una medida cuantitativa del estado biológico que se obtiene de una muestra de sangre u otro tejido. Para cada panel, los experimentos han verificado que un perfil de expresión génica que usa los constituyentes del panel es informativo de un estado biológico. También se ha demostrado que al ser informativo de un estado biológico, el perfil de expresión génica se usa, entre otras cosas, para medir la eficacia de la terapia, así como para proporcionar una diana para la intervención terapéutica.

15 Las tablas 1-9 listadas a continuación, incluyen genes relevantes que se pueden seleccionar para un panel de genes distintivo de roedor, útil para la evaluación de un agente en un estado biológico humano. Un experto en la materia reconocerá que también se pueden seleccionar ortólogos y/u homólogos de cualquiera de los genes listados en las tablas 1-9 a continuación, para un panel distintivo de roedor dado, útiles para la evaluación de un agente en un estado biológico humano.

20 Tabla 1. Panel de expresión génica para la inflamación

Tabla 2. Panel de expresión génica de artritis reumatoide o afecciones inflamatorias relacionadas con la artritis reumatoide

Tabla 3. Panel de expresión génica de ratón (24 genes) para la inflamación

Tabla 4. Panel distintivo de 8 genes de ratón para la inflamación (infusión de LPS)

25 Tabla 5. Panel distintivo de 20 genes de ratón para la inflamación

Tabla 6. Panel distintivo de 8 genes de ratón para la inflamación (LPS + dexametasona)

Tabla 7. Panel distintivo de 9 genes de ratón para la inflamación (respuesta en sangre entera estimulada con LPS)

Tabla 8. Panel distintivo de 8 genes de ratón para la inflamación (respuesta en sangre entera estimulada con LPS)

Tabla 9. Panel de expresión de 40 genes de ratón para la artritis reumatoide

30 Además de los paneles mostrados en las tablas 1 a 9 anteriores, el experto en la técnica puede construir y verificar experimentalmente otros paneles de acuerdo con los principios articulados en la presente solicitud.

En general, el experto en la técnica puede construir y validar experimentalmente los paneles de acuerdo con los principios articulados en la presente solicitud.

Diseño de ensayos

35 Típicamente, una muestra se ensaya a lo largo de un panel con 3 repeticiones para cada gen diana (ensayo); es decir, una muestra se divide en partes alícuotas y para cada parte alícuota se miden las concentraciones de cada constituyente de un panel de expresión génica (Precision Profile™). A partir de alrededor de un total de 900 ensayos de constituyentes, con cada ensayo realizado por triplicado, se encontró un coeficiente de variación medio (desviación típica/media)*100, menor de 2% entre las medidas de ΔCt normalizadas para cada ensayo (donde la cuantificación normalizada del ARNm diana se determina por la diferencia en los ciclos umbral entre el control interno (p. ej., un marcador endógeno tal como ARNr 18S, o un marcador exógeno) y el gen de interés. Esta es una medida llamada "variabilidad intraensayo". También se han llevado a cabo ensayos en diferentes ocasiones usando el mismo material de muestra. Esta es una medida de la "variabilidad interensayo". Preferiblemente, el coeficiente de variación medio de la variabilidad intraensayo o la variabilidad interensayo es menor de 20%, más preferiblemente menor de 10%, más preferiblemente menor de 5%, más preferiblemente menor de 4%, más preferiblemente menor de 3%, más preferiblemente menor de 2%, e incluso más preferiblemente menor de 1%.

45 Se ha determinado que es valioso usar los resultados de ensayo por cuadruplicado o triplicado y eliminar los datos que son valores estadísticos "atípicos"; dichos datos son los que difieren en un porcentaje mayor de, por ejemplo, 3% de la media de los 3 ó 4 valores. Además, si se excluye más de un dato en un conjunto de 3 ó 4 por este procedimiento, entonces se descartan todos los datos para el constituyente relevante.

Medida de la expresión génica para un constituyente del panel

Para medir la cantidad de un ARN particular en una muestra, se usaron métodos conocidos para el experto en la técnica, para extraer y cuantificar el ARN transcrito de una muestra en relación a un constituyente de un panel de expresión génica (Precision Profile™). (Véanse los protocolos detallados a continuación. Véase también la publicación de solicitud PCT número WO 98/24935 incorporada en la presente memoria por referencia, para los protocolos de análisis de ARN). Brevemente, se extrae el ARN de una muestra tal como de cualquier tejido, fluido corporal, célula o medio de cultivo en el que se puede estar cultivando una población de células de un sujeto. Por ejemplo, se pueden lisar las células y eluir el ARN en una disolución adecuada en la que llevar a cabo una reacción con DNAsa. Después de la extracción del ARN, se puede llevar a cabo la síntesis de la primera cadena usando una transcriptasa inversa. Después se puede llevar a cabo la amplificación del gen, más específicamente ensayos de PCR cuantitativa, y calibrar el gen de interés frente a un marcador interno tal como ARNr 18S (Hirayama et al., Blood 92, 1998: 46-52). Se puede usar cualquier otro marcador endógeno, tal como ARNr 28S-25S y ARNr 5S. Las muestras se miden en múltiples repeticiones, por ejemplo, 3 repeticiones. En una realización de la invención, la PCR cuantitativa se lleva a cabo usando la amplificación, agentes indicadores e instrumentos tales como los suministrados en el comercio por Applied Biosystems (Foster City, CA). Dada una eficacia definida de amplificación de los transcritos diana, el punto (p. ej., número de ciclo) en el que la señal del molde diana amplificado es detectable se puede relacionar directamente con la cantidad de mensaje específico transcrito en la muestra medida. Igualmente, otras señales cuantificables tales como fluorescencia, actividad enzimática, desintegraciones por minuto, absorbancia, etc., cuando se correlacionan con una concentración conocida de moldes diana (p. ej., una curva de referencia patrón) o se normalizan respecto a un patrón con una variabilidad limitada, se pueden usar para cuantificar el número de moldes diana en una muestra desconocida.

Aunque no se limita a los métodos de amplificación, las técnicas de expresión génica cuantitativa pueden usar la amplificación del transcrito diana. Alternativamente o en combinación con la amplificación del transcrito diana, también se puede usar la cuantificación de la señal indicadora para un marcador interno generado por el aumento exponencial del producto amplificado. La amplificación del molde diana se puede realizar por estrategias de amplificación génica isotérmica o por amplificación génica por ciclos térmicos tales como la PCR.

Es conveniente obtener una correlación definible y reproducible entre la diana amplificada o señal indicadora, es decir, el marcador interno, y la concentración de los moldes de partida. Se ha descubierto que este objetivo se puede lograr mediante una cuidadosa atención, por ejemplo, a las relaciones cebador-molde consistentes y una estricta adhesión a un nivel permisible estrecho de eficacias de amplificación experimentales (por ejemplo, eficacia relativa de 90,0 a 100% +/- 5%, típicamente eficacia relativa de 99,8 a 100%). Por ejemplo, para determinar los niveles de expresión génica en relación con un solo perfil de expresión génica, es necesario que todos los constituyentes de los paneles, incluyendo los controles endógenos, mantengan eficacias de amplificación similares, como se definen en la presente memoria, para permitir medidas relativas exactas y precisas para cada constituyente. Las eficacias de amplificación se considera que son "sustancialmente similares" para los propósitos de esta descripción y las reivindicaciones siguientes, si difieren en no más de aproximadamente 10%, preferiblemente en menos de aproximadamente 5%, más preferiblemente en menos de aproximadamente 3% y lo más preferiblemente en menos de aproximadamente 1%. Las condiciones de medida se considera que son "sustancialmente repetibles" para los propósitos de esta descripción y las siguientes reivindicaciones, si difieren en no más de aproximadamente +/-10% del coeficiente de variación (CV), preferiblemente en menos de aproximadamente +/- 5% del CV, más preferiblemente +/-2% del CV. Estas restricciones deben cumplirse a lo largo de todo el intervalo de niveles de concentración que se van a medir asociados con el estado biológico relevante. Aunque así para diferentes realizaciones de la presente memoria es necesario satisfacer los criterios de que las medidas se obtienen en condiciones de medida que son sustancialmente repetibles y en las que la especificidad y las eficacias de la amplificación para todos los constituyentes son sustancialmente similares, no obstante, está dentro del alcance de la presente invención como se reivindica en la presente memoria, lograr dichas condiciones de medida ajustando los resultados del ensayo que no satisfacen estos criterios directamente, de modo que se compensen los errores, de modo que los criterios se satisfacen después de un ajuste adecuado de los resultados del ensayo.

En la práctica, se llevan a cabo ensayos para asegurar que se satisfacen estas condiciones. Por ejemplo, el diseño de todos los conjuntos de cebador-sonda se hace en el propio laboratorio, y se lleva a cabo la experimentación para determinar qué conjunto da el mejor rendimiento. Incluso aunque el diseño del cebador-sonda se puede potenciar usando técnicas de ordenador conocidas en la técnica, y a pesar de ser práctica común, se ha encontrado que la validación experimental todavía es útil. Además, en el transcurso de la validación experimental, la combinación de cebador-sonda seleccionada se asocia con un conjunto de características:

El cebador inverso debe ser complementario de la cadena de ADN codificante. En una realización, el cebador debe estar situado a lo largo de una unión intrón-exón, con no más de 4 bases del extremo 3' del cebador inverso complementarias del exón proximal. (Si más de 4 bases son complementarias, entonces tendrá tendencia a amplificar de forma competitiva el ADN genómico).

En una realización de la invención, el conjunto de cebador y sonda debe amplificar ADNc de menos de 110 base de longitud y no debe amplificar, o generar señal fluorescente, ADN genómico o transcritos o ADNc de locus relacionados pero biológicamente irrelevantes.

Una diana adecuada del cebador-sonda seleccionado es la primera cadena de ADNc, que en una realización se puede preparar a partir de sangre entera como sigue:

(a) Uso de sistemas celulares o sangre entera para la evaluación ex vivo de un estado biológico afectado por un agente.

- 5 En una realización de la invención, se puede usar cualquier tejido, fluido corporal o célula(s) para la evaluación ex vivo de un estado biológico afectado por un agente. Los ácidos nucleicos, ARN y/o ADN se purifican a partir de células, tejidos o fluidos de la población de células de ensayo o líneas celulares indicadoras. El ARN se obtiene preferiblemente de la mezcla de ácidos nucleicos usando una variedad de procedimientos convencionales (o estrategias de aislamiento de ARN, pág. 55-104, en *RNA Methodologies, A laboratory guide for isolation and*
- 10 *characterization*, 2nd edition, 1998, Robert E. Farrell, Jr., Ed., Academic Press), usando en la presente un sistema de aislamiento de ARN basado en filtro de Ambion (RNAqueous™, Kit de aislamiento de ARN total exento de fenol, nº de catálogo 1912, versión 9908; Austin, Texas).

- 15 En otra realización de la invención, se obtiene sangre humana por venopunción y se prepara para el ensayo separando las muestras para valores de referencia, estímulo no exógeno, y uno o más estímulos proenfermedad con suficiente volumen para al menos 3 tiempos de medida. Las partes alícuotas de sangre entera heparinizada se mezclan con compuestos terapéuticos de ensayo adicionales y se mantienen a 37°C en una atmósfera de 5% de CO₂ durante 30 min. Se añade el estímulo a diferentes concentraciones, se mezcla y se mantiene tapado sin apretar a 37°C durante el tiempo prescrito. En los tiempos de medida definidos, las células se lisan y el ARN se extrae por diferentes medios convencionales.

- 20 De acuerdo con un procedimiento, el ensayo de sangre entera para la determinación de perfiles de expresión génica se lleva a cabo como sigue: se extrae sangre entera humana en tubos Vacutainer de 10 ml con heparina sódica. Las muestras de sangre se mezclan suavemente invirtiendo los tubos 4-5 veces. La sangre se usa en el espacio de 10-15 min de la extracción. En los experimentos, la sangre se diluye 2 veces, es decir, por muestra por punto de medida, 0,6 ml de sangre entera + 0,6 ml de estímulo. Se prepara el medio de ensayo y se añade el estímulo según sea adecuado.
- 25

- Después se añade una cantidad (0,6 ml) de sangre entera en cada tubo de polipropileno de 12 x 75 mm. Se añaden 0,6 ml de 2X LPS (de *E. coli* serotipo 0127:B8, Sigma nº L3880 o serotipo 055, Sigma nº L4005, 10 ng/ml, sometido a cambio en diferentes lotes) en tubos de LPS. Después, se añaden 0,6 ml de medio de ensayo a los tubos de "control". Las tapas se cierran herméticamente. Los tubos se invierten 2-3 veces para mezclar las muestras. Las
- 30 tapas se aflojan hasta el primer tope y los tubos se incuban a 37°C, 5% de CO₂ durante 6 h. A las 6 h, las muestras se mezclan suavemente con células sanguíneas resuspendidas, y se separan 0,15 ml de cada tubo (usando una micropipeta con punta barrera) y se transfieren a 0,15 ml de tampón de lisis y se mezclan. Las muestras lisadas se extraen usando un sistema ABI 6100 Nucleic Acid Prepstation siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante.

- 35 Después, las muestras se centrifugan durante 5 min a 500xg, a temperatura ambiente (centrífuga IEC o equivalente, en adaptadores de tubo de microfuga en cubeta de balanceo), y se separa de cada tubo tanto suero como sea posible y se descarta. Los sedimentos celulares se ponen sobre hielo; y el ARN se extrae tan pronto como sea posible mediante el kit Ambion RNAqueous.

(b) Estrategias de amplificación

- Los ARN específicos se amplifican usando cebadores específicos de mensaje o cebadores aleatorios. Los
- 40 cebadores específicos se sintetizan a partir de datos obtenidos de bases de datos públicas (p. ej., Unigene, National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, Bethesda, MD), que incluyen información de bibliotecas genómicas y de ADNc obtenidas de seres humanos y otros animales. Los cebadores se eligen para amplificar preferentemente a partir de ARN específicos obtenidos de las muestras de ensayo o indicadoras (véase, por ejemplo, RT PCR, capítulo 15 en *RNA Methodologies, A laboratory guide for isolation and characterization*, 2nd
- 45 edition, 1998, Robert E. Farrell, Jr., Ed., Academic Press; o capítulo 22 pág. 143-151, *RNA isolation and characterization protocols, Methods in molecular biology*, Volume 86, 1998, R. Rapley and D. L. Manning Eds., Human Press, o 14 en *Statistical refinement of primer design parameters*, capítulo 5, pág. 55-72, *PCR applications: protocols for functional genomics*, M.A. Innis, D.H. Gelfand and J.J. Sninsky, Eds., 1999, Academic Press). Las amplificaciones se llevan a cabo en condiciones isotérmicas o usando un ciclador térmico (por ejemplo, un sistema
- 50 ABI 9600 ó 9700 ó 7900 obtenido de Applied Biosystems, Foster City, CA; véanse los métodos de detección de ácidos nucleicos, pág. 1-24, en *Molecular methods for virus detection*, D.L. Wiedbrauk and D.H., Farkas, Eds., 1995, Academic Press). Los ácidos nucleicos amplificados se detectan usando sondas de oligonucleótidos de detección marcadas con fluorescencia (véase, por ejemplo, Taqman™ PCR Reagent Kit, Protocol, part number 402823, Revision A, 1996, Applied Biosystems, Foster City CA) que se identifican y sintetizan a partir de bases de datos
- 55 conocidas públicamente, como se describe para los cebadores de amplificación. En el caso presente, el ADNc amplificado se detecta y cuantifica usando el sistema de detección de secuencias ABI Prism 7900 obtenido de Applied Biosystems (Foster City, CA). Las cantidades de ARN específico contenidas en la muestra de ensayo u obtenidas de líneas celulares indicadoras pueden estar relacionadas con la cantidad relativa de fluorescencia observada (véase, por ejemplo, *Advances in quantitative PCR technology: 5' nuclease assays*, Y.S. Lie and C.J.

Petropolis, *Current Opinion in Biotechnology*, 1998, 9:43-48, o *Rapid thermal cycling and PCR kinetics*, pág. 211-229, capítulo 14 en *PCR applications: protocols for functional genomics*, M.A. Innis, D.H. Gelfand and J.J. Sninsky, Eds., 1999, Academic Press).

- 5 Una implementación particular de la metodología descrita aquí en detalle es un procedimiento para la síntesis de la primera cadena de ADNc para usar en la PCR. Este procedimiento se puede usar tanto para ARN de sangre entera como ARN extraído de células cultivadas (p. ej., red trabecular, células ganglionares de la retina, células de la cabeza del nervio óptico y células epiteliales coroideas).

Materiales

- 10 1. Kit de reactivos de transcripción inversa TAQMAN Applied Biosystems (P/N 808-0234). Componentes del kit: 10X tampón RT TaqMan, cloruro de magnesio 25 mM, mezcla de desoxiNTP, hexámeros aleatorios, inhibidor de RNasa, transcriptasa inversa MultiScribe (50 U/ml) (2) agua exenta de RNasa/DNasa (agua tratada con DEPC de Ambion (P/N 9915G), o equivalente)

Métodos

- 15 1. Poner el inhibidor de RNasa y la transcriptasa inversa MultiScribe sobre hielo inmediatamente. Todos los demás reactivos se pueden descongelar a temperatura ambiente y después poner sobre hielo.
2. Retirar las muestras de ARN del congelador a -80°C y descongelar a temperatura ambiente y después ponerlas inmediatamente sobre hielo.
3. Preparar el siguiente cóctel de reactivos de transcriptasa inversa para cada 100 ml de reacción de RT (para múltiples muestras, preparar cóctel en exceso para dejar margen para el error de pipeteo):

1 reacción (ml)	11X, p. ej. 10 muestras (µl)	
10X tampón de RT	10,0	110,0
MgCl ₂ 25 mM	22,0	242,0
dNTP	20,0	220,0
Hexámeros aleatorios	5,0	55,0
Inhibidor de RNasa	2,0	22,0
Transcriptasa inversa	2,5	27,5
Agua	18,5	203,5
Total:	80,0	880,0 (80 µl por muestra)

- 20 4. Llevar cada muestra de ARN a un volumen total de 20 µl en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml (por ejemplo, para ARN de THP-1, separar 10 µl de ARN y diluir hasta 20 µl con agua exenta de RNasa/DNasa, para ARN de sangre entera usar 20 µl de ARN total) y añadir 80 µl de mezcla de reacción de RT de las etapas 5,2,3. Mezclar mediante la pipeta presionando hacia arriba y abajo.
5. Incubar la muestra a temperatura ambiente durante 10 min.
- 25 6. Incubar la muestra a 37°C durante 1 h.
7. Incubar la muestra a 90°C durante 10 min.
8. Centrifugar rápido las muestra en microcentrífuga.
9. Poner la muestra sobre hielo si se va a hacer la PCR inmediatamente, de lo contrario almacenar la muestra a -20°C para el uso futuro.
- 30 10. La PCR QC debe llevarse a cabo en todas las muestras de RT usando 18S y β-actina.

El uso del cebador-sonda con la primera cadena de ADNc como se ha descrito antes, para permitir la medida de los constituyentes de un panel de expresión génica (Precision Profile™) es como sigue:

Materiales:

1. 20X Mezcla de cebador/sonda para cada gen de interés.

2. 20X Mezcla de cebador/sonda para el control endógeno 18S.
3. 2X Mezcla madre universal para PCR Taqman.
4. ADNc transcrito de ARN extraído de células.
5. Placas de reacción ópticas de 96 pocillos Applied Biosystems.
- 5 6. Tapones ópticos o película ópticamente transparente Applied Biosystems.
7. Detector de secuencia Prism 7700 ó 7900 Applied Biosystems.

Métodos

- 10 1. Hacer disoluciones madre de cada mezcla de cebador/sonda que contiene el cebador/sonda para el gen de interés, cebador/sonda para el control endógeno 18S, y 2X mezcla madre para PCR como sigue. Hacer un exceso suficiente para dejar margen para el error de pipeteo, p. ej., un exceso de aproximadamente 10%. El siguiente ejemplo ilustra una preparación típica para un gen con muestras por cuadruplicado para ensayar dos condiciones (2 placas).

	1X (1 pocillo) (µl)
2X Mezcla madre	7,5
20X Mezcla de cebador/sonda para 18S	0,75
20X Mezcla de cebador/sonda para gen de interés	0,75
Total	9,0

2. Hacer disoluciones madre de ADNc dianas diluyendo 95 µl de ADNc en 2000 µl de agua. La cantidad de ADNc se ajusta para dar valores de Ct entre 10 y 18, típicamente entre 12 y 16.
- 15 3. Añadir mediante pipeta 9 µl de mezcla de cebador/sonda en los pocillos adecuados de una placa de reacción óptica de 384 pocillos de Applied Biosystems.
4. Añadir mediante pipeta 10 µl de disolución madre de ADNc a cada pocillo de la placa de reacción óptica de 384 pocillos de Applied Biosystems.
5. Sellar la placa con tapones ópticos de Applied Biosystems o película ópticamente transparente.
- 20 6. Analizar la placa en un detector de secuencia Prism 7900 ABI.

En otra realización de la invención, el uso del cebador-sonda con la primera cadena de ADNc como se ha descrito antes para permitir la medida de constituyentes de un panel de expresión génica (Precision Profile™) se lleva a cabo usando un ensayo de QPCR en instrumentos Cepheid SmartCycler® y GeneXpert® como sigue:

- 25 I. Para llevar a cabo el ensayo de QPCR por duplicado en el instrumento Cepheid SmartCycler® que contiene 3 genes diana y un gen de referencia, se debe seguir el siguiente procedimiento.
- A. Con 20X disoluciones madre de cebador/sonda.

Materiales

1. Mezcla madre liofilizada SmartMix™-HM.
2. Agua de calidad molecular.
- 30 3. 20X Mezcla de cebador/sonda para el gen del control endógeno 18S. El gen del control endógeno se marcará doblemente con VIC-MGB o equivalente.
4. 20X Mezcla de cebador/sonda para cada uno para el gen diana 1, doblemente marcado con FAM-BHQ1 o equivalente.
- 35 5. 20X Mezcla de cebador/sonda para cada uno para el gen diana 2, doblemente marcado con Texas Red-BHQ2 o equivalente.
6. 20X Mezcla de cebador/sonda para cada uno para el gen diana 3, doblemente marcado con Alexa 647-BHQ3 o equivalente.

7. Tampón Tris a pH 9,0
8. ADNc transcrito de ARN extraído de la muestra.
9. Tubo de 25 µl SmartCycler®.
10. Instrumento Cepheid SmartCycler®.

5 Métodos

1. Para cada muestra de ADNc que se va a investigar, añadir lo siguiente a un tubo de 650 µl estéril.

Mezcla madre liofilizada SmartMix™-HM	1 perla
20X Mezcla de cebador/sonda para 18S	2,5 µl
20X Mezcla de cebador/sonda para gen diana 1	2,5 µl
20X Mezcla de cebador/sonda para gen diana 2	2,5 µl
20X Mezcla de cebador/sonda para gen diana 3	2,5 µl
Tampón Tris a pH 9,0	2,5 µl
Agua estéril	34,5 µl
Total	47 µl

Mezclar con mezclador de vórtice la mezcla durante 1 segundo 3 veces para mezclar completamente los reactivos. Centrifugar brevemente el tubo después de la mezcla vortical.

2. Diluir la muestra de ADNc de modo que una adición de 3 µl a la mezcla de reactivos anteriores dará un valor de CT del gen de referencia de 18S entre 12 y 16.
3. Añadir 3 µl de la muestra de ADNc preparada a la mezcla de reactivos llevando el volumen total a 50 µl. Mezclar con mezclador de vórtice la mezcla durante 1 segundo 3 veces para mezclar completamente los reactivos. Centrifugar brevemente el tubo después de la mezcla vortical.
4. Añadir 25 µl de la mezcla a cada uno de dos tubos SmartCycler™, tapar el tubo y centrifugar durante 5 s en una microcentrífuga que tiene un adaptador para tubos SmartCycler™.
5. Retirar los dos tubos SmartCycler™ de la microcentrífuga e inspeccionar las burbujas de aire. Si hay burbujas de aire, volver a centrifugar, de lo contrario, cargar los tubos en el instrumento SmartCycler™.
6. Llevar a cabo el protocolo de QPCR adecuado en el SmartCycler™, exportar los datos y analizar los resultados.

B. Con SmartBeads™ liofilizadas.

20 Materiales

1. Mezcla madre liofilizada SmartMix™-HM.
2. Agua de calidad molecular.
3. SmartBeads™ que contienen el gen del control endógeno de 18S doblemente marcado con VIC-MGB o equivalente, y los 3 genes diana, uno doblemente marcado con FAM-BHQ1 o equivalente, uno doblemente marcado con Texas Red-BHQ2 o equivalente y uno doblemente marcado con Alexa 647-BHQ3 o equivalente.
4. Tampón Tris a pH 9,0
5. ADNc transcrito de ARN extraído de la muestra.
6. Tubo de 25 µl SmartCycler®.
7. Instrumento Cepheid SmartCycler®.

30 Métodos

1. Para cada muestra de ADNc que se va a investigar, añadir lo siguiente a un tubo de 650 µl estéril.

ES 2 419 059 T3

Mezcla madre liofilizada SmartMix™-HM	1 perla
SmartBead™ que contiene 4 conjuntos de cebador/sonda	1 perla
Tampón Tris a pH 9,0	2,5 µl
Agua estéril	44,5 µl
Total	47 µl

Mezclar con mezclador de vórtice la mezcla durante 1 segundo 3 veces para mezclar completamente los reactivos. Centrifugar brevemente el tubo después de la mezcla vortical.

2. Diluir la muestra de ADNc de modo que una adición de 3 µl a la mezcla de reactivos anteriores de un valor de CT del gen de referencia de 18S entre 12 y 16.

5 3. Añadir 3 µl de la muestra de ADNc preparada a la mezcla de reactivos llevando el volumen total a 50 µl. Mezclar con mezclador de vórtice la mezcla durante 1 segundo 3 veces para mezclar completamente los reactivos. Centrifugar brevemente el tubo después de la mezcla vortical.

4. Añadir 25 µl de la mezcla a cada uno de dos tubos SmartCycler™, tapar el tubo y centrifugar durante 5 s en una microcentrífuga que tiene un adaptador para tubos SmartCycler™.

10 5. Retirar los dos tubos SmartCycler™ de la microcentrífuga e inspeccionar las burbujas de aire. Si hay burbujas de aire, volver a centrifugar, de lo contrario, cargar los tubos en el instrumento SmartCycler™.

6. Llevar a cabo el protocolo de QPCR adecuado en el SmartCycler™, exportar los datos y analizar los resultados.

15 II. Para llevar a cabo un ensayo de QPCR en el instrumento Cepheid GeneXpert® que contiene 3 genes diana y un gen de referencia, se debe seguir el siguiente procedimiento. Obsérvese que para hacer duplicados, es necesario cargar y llevar dos cartuchos independientes en el instrumento GeneXpert®.

Materiales

1. Cartucho independiente de Cepheid GeneXpert® precargado con una perla de mezcla madre SmartMix™-HM liofilizada y una SmartBead™ liofilizada que contiene 4 conjuntos de cebador/sonda.

2. Agua de calidad molecular, que contiene tampón Tris a pH 9,0.

20 3. Reactivos de extracción y purificación.

4. Muestra clínica (sangre entera, ARN, etc.)

5. Instrumento Cepheid GeneXpert®

Métodos

1. Retirar el cartucho independiente de GeneXpert® adecuado del envase.

25 2. Cargar la cámara adecuada del cartucho independiente con agua de calidad molecular con tampón Tris a pH 9,0.

3. Cargar las cámaras adecuadas del cartucho independiente con reactivos de extracción y purificación.

4. Cargar una parte alícuota de la muestra clínica en la cámara adecuada del cartucho independiente.

5. Sellar el cartucho y cargarlo en el instrumento GeneXpert®.

30 6. Llevar a cabo el protocolo de extracción y amplificación adecuado en el instrumento GeneXpert® y analizar los datos resultantes.

Los métodos de la presente memoria también se pueden aplicar usando proteínas en las que las técnicas cuantitativas sensibles, tales como el ensayo de inmunoabsorción con enzimas ligadas (ELISA) o espectroscopía de masa, están disponibles y son bien conocidas en la técnica para la medida de la cantidad de un constituyente proteínico. (Véase la publicación internacional WO 98/24935 incorporada en la presente memoria por referencia).

35 Conjuntos de datos de perfiles de referencia

Los análisis de las muestras de un solo individuo y de grupos grandes de individuos, proporcionan una biblioteca de conjuntos de datos de perfiles relacionados con un panel particular o serie de paneles. Estos conjuntos de datos de perfiles se pueden almacenar como registros en una biblioteca para usar como conjuntos de datos de perfiles de

referencia. Como sugiere el término "referencia", los conjuntos de datos de perfiles de referencia almacenados sirven como comparadores para proporcionar un conjunto de datos de perfil calibrado, que es informativo sobre un estado biológico o un agente. Los conjuntos de datos de perfiles de referencia se pueden almacenar en bibliotecas y clasificar en una serie de referencias cruzadas. Una forma de clasificación se puede basar en las características de los paneles a partir de los cuales derivan los conjuntos de datos. Otra forma de clasificación puede ser el estado biológico particular, p. ej., inflamación. El concepto de estado biológico abarca cualquier estado en el que una célula o población de células se puedan encontrar en cualquier momento. Este estado puede reflejar la geografía de las muestras, sexo de los sujetos o cualquier otro discriminador. Algunos de los discriminadores se pueden superponer. También se puede acceder a las bibliotecas para registros asociados con un solo sujeto o ensayo clínico particular. La clasificación de los conjuntos de datos de perfiles de referencia puede tener además anotaciones de información médica sobre un sujeto particular, un estado médico y/o un agente particular.

La elección de un conjunto de datos de perfil de referencia para crear un conjunto de datos de perfil calibrado está relacionado con el estado biológico que se va a evaluar, controlar o predecir, así como con el uso al que está dirigido el panel calibrado, p. ej., para seguir el desarrollo de un fármaco, el control de calidad u otros usos. Puede ser conveniente acceder a los conjuntos de datos de perfiles de referencia del mismo sujeto para el que se obtiene un primer conjunto de datos de perfil o de un sujeto diferente en diferentes tiempos, exposiciones a estímulos, fármacos o compuestos complejos; o se pueden obtener de poblaciones o conjuntos de sujetos similares o distintos. El conjunto de datos de perfil de referencia pueden ser valores de referencia sanos, normales.

El conjunto de datos de perfil puede proceder del mismo sujeto para el que se obtiene el primer conjunto de datos, donde la muestra se toma en tiempos separados o similares, en sitios diferentes o similares, o en un estado biológico diferente o similar. Por ejemplo, se puede tomar una muestra antes de la estimulación o después de la estimulación con un compuesto o sustancia endógena, tal como antes o después de tratamiento terapéutico. El conjunto de datos de perfil obtenido de la muestra no estimulada puede servir como un conjunto de datos de perfil de referencia para la muestra tomada después de la estimulación. El conjunto de datos de referencia también se puede obtener de una biblioteca que contiene conjuntos de datos de perfiles de una población o conjunto de sujetos que algunas características o estado biológico que los define. El conjunto de datos de perfil de referencia también puede corresponder a algunas propiedades ex vivo o in vitro asociadas con un cultivo celular in vitro. Los conjuntos de datos de perfil calibrados después se pueden almacenar como un registro en una base de datos o biblioteca junto con o separado de una base de datos de perfiles de referencia y opcionalmente, el primer conjunto de datos de perfil, aunque normalmente el primer conjunto de datos de perfil queda incorporado en un conjunto de datos de perfil de referencia bajo los criterios de clasificación adecuados. La notable consistencia de los perfiles de expresión génica asociados con un estado biológico dado los hace valiosos para almacenar datos de perfiles que se pueden usar, entre otras cosas, para propósitos de referencia normativa. La referencia normativa puede servir para indicar el grado con el que un sujeto se ajusta a un estado biológico dado (de salud o enfermedad) y, alternativamente o además, para proporcionar una diana para la intervención clínica.

Los conjuntos de datos de perfiles de referencia seleccionados también se pueden usar como un patrón mediante el cual evaluar lotes de fabricación en términos de eficacia, toxicidad, etc. Cuando se mide el efecto de un agente terapéutico, el conjunto de datos de referencia puede corresponder a los perfiles de expresión génica tomados antes de la administración del agente. Cuando se determina el control de calidad para un producto fabricado nuevo, el conjunto de datos de referencia se puede corresponder con un patrón referencial para ese producto. Sin embargo, se puede usar cualquier técnica de normalización adecuada. Por ejemplo, se obtiene un conjunto de datos de perfil de referencia de material auténtico de un producto nutracéutico de hierbas que crece de forma natural y se compara a lo largo del tiempo y de diferentes lotes, con el fin de demostrar la consistencia, o falta de consistencia, en lotes de compuestos preparados para la liberación.

45 Datos calibrados

Dada la repetibilidad lograda en la medida de la expresión génica, descrita antes en relación con los "paneles de expresión génica" (Precision Profiles™) y "amplificación de genes", se concluyó que cuando se producen diferencias en las medidas en dichas condiciones, las diferencias son atribuibles a diferencias en el estado biológico. Por lo tanto, se ha encontrado que los conjuntos de datos de perfiles calibrados son muy reproducibles en muestras tomadas del mismo individuo en las mismas condiciones. Igualmente, se ha encontrado que los conjuntos de datos de perfiles calibrados son reproducibles en muestras que se ensayan de forma repetida. También se han encontrado casos repetidos en los que los conjuntos de datos de perfiles calibrados obtenidos cuando las muestras de un sujeto se exponen ex vivo a un compuesto, son comparables con los datos de perfiles calibrados de una muestra que se ha expuesto a una muestra in vivo. Es importante que se ha determinado que una línea celular indicadora tratada con un agente, en muchos casos puede proporcionar conjuntos de datos de perfiles calibrados comparables a los obtenidos de poblaciones de células in vivo o ex vivo. Además, se ha determinado que administrar una muestra de un sujeto a células indicadoras puede proporcionar conjuntos de datos de perfiles calibrados informativos con respecto al estado biológico del sujeto, incluyendo estados de salud, de enfermedad, intervenciones terapéuticas, envejecimiento o exposición a estímulos medioambientales o toxinas del sujeto.

60 Cálculo de conjuntos de datos de perfiles calibrados y ayudas computacionales

El conjunto de datos de perfil calibrado se puede expresar en una hoja de cálculo o se puede representar gráficamente, por ejemplo, en un diagrama de barras o en forma tabular, pero también se puede expresar en una representación tridimensional. La función que relaciona los datos de referencia y de perfil puede ser una relación expresada como un logaritmo. El constituyente se puede especificar en el eje x y la escala logarítmica puede estar en el eje y. Los miembros de un conjunto de datos calibrado se pueden expresar como un valor positivo que representa una potenciación relativa de la expresión génica o como un valor negativo que representa una reducción relativa de la expresión génica con respecto al valor de referencia.

Cada miembro del conjunto de datos de perfil calibrado debe ser reproducible dentro de un intervalo con respecto a muestras similares tomadas de sujetos en condiciones similares. Por ejemplo, los conjuntos de datos de perfiles calibrados pueden ser reproducibles dentro de un orden de magnitud con respecto a muestras similares tomadas del sujeto en condiciones similares. Más en particular, los miembros pueden ser reproducibles dentro de 20%, típicamente dentro de 10%. De acuerdo con realizaciones de la invención, un patrón de aumento, disminución y sin cambio con respecto a la expresión génica de cada uno de una pluralidad de locus génicos examinados en el panel de expresión génica (Precision Profiles™), se puede usar para preparar un conjunto de perfil calibrado que es informativo en relación a un estado biológico, eficacia biológica de un agente, condiciones de tratamiento, o para la comparación de poblaciones o conjuntos de sujetos o muestras, o para la comparación de poblaciones de células. Los patrones de esta naturaleza se pueden usar para identificar posibles candidatos para un ensayo de fármacos, se pueden usar solos o en combinación con otros indicadores clínicos para el diagnóstico o pronóstico en relación con un estado biológico, o se pueden usar para guiar el desarrollo de un producto farmacéutico o nutracéutico a lo largo de la fabricación, ensayo y comercialización.

Los datos numéricos obtenidos de la expresión génica cuantitativa y los datos numéricos de la expresión génica calibrada con respecto a un conjunto de datos de perfil de referencia, se pueden almacenar en bases de datos o medios de almacenamiento digitales y se pueden recuperar para propósitos que incluyen gestionar la asistencia sanitaria del paciente o llevar a cabo ensayos clínicos o caracterizar un fármaco. Los datos se pueden transferir en redes físicas o inalámbricas a través de la *World Wide Web*, correo electrónico o sitios de acceso a internet por ejemplo, o mediante copia impresa, para así recogerlos y reunirlos de sitios geográficos distantes.

El método también incluye producir un conjunto de datos de perfil calibrado para el panel, en el que cada miembro del conjunto de datos de perfil calibrado es una función de un miembro correspondiente del primer conjunto de datos de perfil y un miembro correspondiente de un conjunto de datos de perfil de referencia para el panel, y en el que el conjunto de datos de perfil de referencia está relacionado con el estado biológico, p. ej., una enfermedad, que se va a evaluar, siendo el conjunto de datos de perfil calibrado una comparación entre el primer conjunto de datos de perfil y el conjunto de datos de perfil de referencia, proporcionando así la evaluación del estado biológico.

En otras realizaciones más, la función es una función matemática y es distinta de una simple diferencia, incluyendo una segunda función de la relación del miembro correspondiente del primer conjunto de datos de perfil al miembro correspondiente del conjunto de datos de perfil de referencia, o una función logarítmica. En dichas realizaciones, se obtiene la primera muestra y se cuantifica el primer conjunto de datos de perfil en un primer sitio, y se produce el conjunto de datos de perfil calibrado usando una red de acceso a una base de datos almacenada en un medio de almacenamiento digital en un segundo sitio, en el que la base de datos se puede actualizar para reflejar el primer conjunto de datos de perfil cuantificado a partir de la muestra. Además, el uso de una red puede incluir acceder a una red de ordenador global.

En una realización de la presente invención, se almacena un registro descriptivo en una sola base de datos o múltiples bases de datos donde los datos almacenados incluyen los datos de expresión génica brutos (primer conjunto de datos de perfil) antes de la transformación mediante el uso de un conjunto de datos de perfil de referencia, así como un registro del conjunto de datos de perfil de referencia usado para generar el conjunto de datos de perfil calibrado incluyendo, por ejemplo, anotaciones con respecto a si el conjunto de datos de perfil de referencia deriva de un panel distintivo particular y cualquier otra anotación que facilite la interpretación y uso de los datos.

Debido a que los datos están en un formato universal, el manejo de datos se puede hacer fácilmente con un ordenador. Los datos están organizados para proporcionar un resultado que corresponde opcionalmente a una representación gráfica de un conjunto de datos calibrado.

Por ejemplo, una muestra concreta obtenida de un sujeto que es el menos uno de ARN o proteína se puede denominar PI. El primer conjunto de datos de perfil derivado de la muestra PI se denomina Mj, donde Mj es una medida cuantitativa de un constituyente ARN o proteína concreto de PI. El registro Ri es una relación de M y P y se puede anotar con datos adicionales sobre el sujeto al que se refiere, por ejemplo, edad, dieta, etnia, género, situación geográfica, trastorno médico, trastorno mental, medicación, actividad física, masa corporal y exposición medioambiental. Además, el manejo de datos puede incluir también evaluar datos de una segunda base de datos de estados que puede contener datos médicos adicionales no guardados actualmente con los conjuntos de datos de perfiles calibrados. En este contexto, el acceso de datos puede ser por una red de ordenador.

El almacenamiento de datos descrito antes en un ordenador puede proporcionar la información en una forma a la

que un usuario puede acceder. Por consiguiente, el usuario puede cargar la información en un segundo sitio de acceso que incluye descargar la información. Sin embargo, el acceso puede estar restringido a usuarios que tengan una clave u otro dispositivo de seguridad para así proteger los registros médicos contenidos en el mismo. Una característica de esta realización de la invención, es la capacidad de un usuario para añadir registros nuevos o anotaciones al conjunto de datos, de modo que los registros forman parte de la información biológica.

La representación gráfica de los conjuntos de datos de perfiles calibrados correspondientes a un producto tal como un fármaco, proporciona una oportunidad para homologar un producto mediante el perfil calibrado, más en particular un perfil distintivo. El perfil se puede usar como una característica con la que demostrar la eficacia relativa, diferencias en mecanismos de acciones, etc. comparado con otros fármacos aprobados para usos similares o diferentes.

Las diferentes realizaciones de la invención también se pueden implementar como un producto de programa de ordenador para usar con un sistema de ordenador. El producto puede incluir el código de programa para derivar un primer conjunto de datos de perfil y producir perfiles calibrados. Dicha implementación puede incluir una serie de instrucciones de ordenador fijadas en un medio tangible, tal como un medio de lectura por ordenador (por ejemplo, un disquete, CD-ROM, ROM, o disco duro), o transmisible a un sistema de ordenador por un modem u otro dispositivo de interfaz, tal como un adaptador de comunicaciones acoplado a una red. El acoplamiento de la red puede ser, por ejemplo, por líneas de comunicaciones ópticas o por cable, o por técnicas inalámbricas (por ejemplo, técnicas de transmisión por microondas, infrarrojos u otras técnicas) o alguna combinación de estos. Las series de instrucciones de ordenador preferiblemente incorporan toda o parte de la funcionalidad previamente descrita en la presente memoria con respecto al sistema. Los expertos en la técnica apreciarán que dichas instrucciones de ordenador se pueden escribir en una serie de lenguajes de programación para usar con muchas arquitecturas informáticas o sistemas operativos. Además, dichas instrucciones se pueden almacenar en cualquier dispositivo de memoria, tal como dispositivos semiconductores, magnéticos, ópticos u otros dispositivos de memoria, y se pueden transmitir usando cualquier tecnología de comunicaciones, tal como tecnologías de transmisión ópticas, de infrarrojos, microondas u otras. Se espera que dicho producto de programa de ordenador se pueda distribuir como un medio extraíble con documentación impresa o electrónica que lo acompañe (por ejemplo, software empaquetado), precargado en un sistema de ordenador (por ejemplo, en sistema ROM o disco duro), o distribuido desde un servidor o boletín electrónico a través de la red (por ejemplo, internet o *World Wide Web*). Además, se proporciona también un sistema de ordenador que incluye módulos derivados para obtener un primer conjunto de datos y un conjunto de datos de perfil calibrado.

Los conjuntos de datos de perfiles calibrados en forma gráfica o tabular, las bases de datos asociadas, y el índice calculado o algoritmo derivado, junto con la información extraída de los paneles, las bases de datos, los conjuntos de datos o los índices o algoritmos son productos que se pueden vender juntos o por separado para una variedad de propósitos como se describe en la publicación internacional WO 01/25473.

35 Construcción de índices

En combinación, (i) la notable consistencia de los perfiles de expresión génica con respecto a un estado biológico a lo largo de una población o conjunto de sujetos o muestras, o a lo largo de una población de células, y (ii) el uso del procedimiento para proporcionar una medida sustancialmente reproducible de los constituyentes en un panel de expresión génica (Precision Profile™) que dan lugar a un perfil de expresión génica, en condiciones de medida en las que la especificidad y eficacias de la amplificación para todos los constituyentes del panel son sustancialmente similares, hace posible el uso de un índice que caracteriza un perfil de expresión génica, y que por lo tanto proporciona una medida de un estado biológico.

Un índice se puede construir usando una función índice que cartografía valores en un perfil de expresión génica en un solo valor que es pertinente para el estado biológico dado. Los valores en un perfil de expresión génica son las cantidades de cada constituyente del panel de expresión génica (Precision Profile™) que corresponden al perfil de expresión génica. Estas cantidades de los constituyentes forman un conjunto de datos de perfil, y la función índice genera un solo valor de índice a partir de los miembros del conjunto de datos de perfil.

La función índice se puede construir convenientemente como una suma lineal de términos, siendo cada término lo que se denomina en la presente memoria una "función de contribución" de un miembro del conjunto de datos de perfil. Por ejemplo, la función de contribución puede ser una constante por una potencia de un miembro del conjunto de datos del perfil. Por lo tanto, la función índice tendría la forma

$$I = \sum C_i M_i^{P(i)},$$

en la que I es el índice, M es el valor del miembro i del conjunto de datos de perfil, C_i es una constante y P(i) es una potencia a la que se eleva M_i, estando formada la suma por todos los valores integrales de i hasta el número de miembros del conjunto de datos. Se tiene así una expresión polinomial lineal. La función del coeficiente C_i para una expresión génica particular especifica si un valor de ΔCt más alto para este gen aumenta (un C_i positivo) o disminuye (un valor menor) la probabilidad de un estado biológico, manteniéndose constantes los valores de ΔCt de todos los demás genes en la expresión.

Los valores de C_i y $P(i)$ se pueden determinar de una serie de formas, de modo que el índice I es informativo del estado biológico pertinente. Una forma es aplicar técnicas estadísticas tales como el modelo de clases latentes, a los conjuntos de datos de perfil para correlacionar los datos clínicos o datos obtenidos experimentalmente, u otros datos pertinentes, con el estado biológico. En conexión con esto, se puede usar, por ejemplo, el software de Statistical Innovations, Belmont, Massachusetts, llamado Latent Gold®.

Alternativamente, se pueden usar otras técnicas de modelos más sencillos de una forma conocida en la técnica. La función índice para la inflamación se puede construir, por ejemplo, de una forma que un grado mayor de inflamación se correlacione con un valor grande de la función índice. Por lo tanto, en una realización sencilla, cada $P(i)$ puede ser +1 o -1, dependiendo de si el constituyente aumenta o disminuye con el aumento de la inflamación.

Al igual que se puede usar un conjunto de datos de perfil de referencia, discutido antes, para proporcionar una referencia normativa adecuada, y se puede incluso usar para crear un conjunto de datos del perfil calibrado, como se ha discutido antes, basado en la referencia normativa, también se puede proporcionar un índice que caracterize un perfil de expresión génica con un valor normativo de la función índice usada para crear el índice. Este valor normativo se puede determinar con respecto a una población o conjunto de sujetos o muestras relevantes o con respecto a una población de células, de modo que el índice se puede interpretar en relación con el valor normativo. La población o conjunto de sujetos o muestras relevantes, o la población de células relevante pueden tener en común una propiedad que es al menos una del intervalo de edad, género, etnia, situación geográfica, historia nutricional, afección médica, indicador clínico, medicación, actividad física, masa corporal, y exposición medioambiental.

Como ejemplo, el índice se puede construir en relación con un perfil de expresión génica normativo para una población de sujetos sanos, de forma que una lectura de aproximadamente 1 caracterize perfiles de expresión génica normativos de sujetos sanos. Si además se asume que el estado biológico que es el objeto del índice es la inflamación, una lectura de 1 en este ejemplo corresponde, por lo tanto, a un perfil de expresión génica que se corresponde con la norma para sujetos sanos. Una lectura sustancialmente mayor puede identificar entonces un sujeto que experimenta un estado inflamatorio. Sin embargo, el uso de 1 como valor normativo identificador, es solo una posible elección; otra elección lógica es usar 0 como identificador del valor normativo. Con esta elección, las desviaciones del índice del cero se pueden indicar en unidades de desviación típica (de modo que los valores que están entre -1 y +1 abarcan 90% de una población de referencia distribuida normalmente. Puesto que se determinó que los valores de perfil de expresión génica (y por consiguiente los índices construidos basados en los mismos) tienden a estar distribuidos normalmente, el índice centrado en 0 construido de esta forma es muy informativo. Por lo tanto, facilita el uso del índice en el diagnóstico de una enfermedad y establecimiento de objetivos para el tratamiento.

Como otra realización de la invención, se puede usar una función índice I de la forma

$$I = C_0 + \sum C_i M_{1i}^{P1(i)} M_{2i}^{P2(i)},$$

en la que M_1 y M_2 son los valores del miembro i del conjunto de datos de perfil, C_i es una constante determinada sin referencia al conjunto de datos del perfil, y $P1$ y $P2$ son potencias a las que están elevadas M_1 y M_2 . La función de $P1(i)$ y $P2(i)$ es especificar la forma funcional específica de la expresión cuadrática, cuando de hecho la ecuación es lineal, cuadrática, contiene términos de producto cruzado, o es constante. Por ejemplo, cuando $P1 = P2 = 0$, la función índice simplemente es la suma de constantes; cuando $P1 = 1$ y $P2 = 0$, la función índice es una expresión lineal; cuando $P1 = P2 = 1$, la función índice es una expresión cuadrática.

La constante C_0 sirve para calibrar esta expresión respecto a la población biológica de interés que se caracteriza por tener un estado biológico, tal como, para propósitos ilustrativos y sin limitación, inflamación o una enfermedad inflamatoria relacionada. En esta realización, cuando el valor del índice es igual a 0, la probabilidad de que el sujeto tenga inflamación frente a un sujeto normal es 50:50. Más en general, la probabilidad predicha de que el sujeto tenga inflamación es $[\exp(I_i)]$, y por lo tanto la probabilidad predicha de tener inflamación es $[\exp(I_i)]/[1+\exp(I_i)]$. Por lo tanto, cuando el índice supera 0, la probabilidad predicha de que un sujeto tenga inflamación es mayor que 0,5, y cuando está por debajo de 0, la probabilidad predicha es menor de 0,5.

El valor de C_0 se puede ajustar para reflejar la probabilidad previa de estar en esta población, basándose en factores de riesgo exógenos conocidos para el sujeto. En una realización donde C_0 se ajusta como una función de los factores de riesgo del sujeto, donde el sujeto tiene probabilidad previa p_i de tener inflamación basada en dichos factores de riesgo, el ajuste se hace aumentando (disminuyendo) el valor C_0 no ajustado añadiendo a C_0 el logaritmo natural de la relación de la probabilidad previa de tener inflamación teniendo en cuenta los factores de riesgo a la probabilidad previa general de tener inflamación sin tener en cuenta los factores de riesgo.

Kits

La invención también incluye un reactivo de detección del estado biológico, es decir, ácidos nucleicos que identifican específicamente uno o más estados biológicos (p. ej., cualquier gen listado en las tablas 1-9), al tener secuencias de ácidos nucleicos homólogas, tal como secuencias de oligonucleótidos, complementarias de una parte de los ácidos nucleicos que codifican un gen relacionado con la enfermedad o anticuerpos contra proteínas codificadas por los

ácidos nucleicos que codifican los genes relacionados con la enfermedad, envasados juntos en la forma de un kit. Los oligonucleótidos pueden ser fragmentos de la enfermedad relacionada. Por ejemplo, los oligonucleótidos pueden tener 200, 150, 100, 50, 25, 10 o menos nucleótidos de longitud. El kit puede contener en envases separados un ácido nucleico o anticuerpo (ya unido a una matriz sólida o envasados por separado con reactivos para unirlos a la matriz), formulaciones de control (positivas y/o negativas), y/o un marcador detectable. Pueden estar incluidas en el kit instrucciones (es decir, escritas, grabadas, VCR, CD-ROM, etc.) para llevar a cabo el ensayo. El ensayo puede ser, por ejemplo, en forma de PCR, una hibridación Northern o un ensayo ELISA en sándwich, como se conoce en la técnica.

Por ejemplo, los reactivos de detección de genes de la enfermedad inflamatoria se pueden inmovilizar en una matriz sólida tal como una tira porosa para formar al menos un sitio de detección del gen relacionado con la enfermedad. La medida o región de detección de la tira porosa puede incluir una pluralidad de sitios que contienen un ácido nucleico. Una tira de ensayo también puede contener sitios para controles negativos y/o positivos. Alternativamente, los sitios de control pueden estar situados en una tira separada de la tira de ensayo. Opcionalmente, los diferentes sitios de detección pueden contener diferentes cantidades de ácidos nucleicos inmovilizados, es decir, una cantidad mayor en el primer sitio de detección y cantidades menores en sitios posteriores. Tras la adición de la muestra de ensayo, el número de sitios que presentan una señal detectable proporciona una indicación cuantitativa de la cantidad de genes de la enfermedad inflamatoria presentes en la muestra. Los sitios de detección se pueden configurar en cualquier forma detectable adecuada y típicamente están en forma de una barra o mancha que cubre el ancho de una tira de ensayo.

Alternativamente, los genes de detección de la enfermedad inflamatoria se pueden marcar (p. ej., con uno o más colorantes fluorescentes) e inmovilizar sobre perlas liofilizadas para formar al menos un sitio de detección de genes inflamatorios. Las perlas pueden contener también sitios para controles negativos y/o positivos. Tras la adición de la muestra de ensayo, el número de sitios que presentan una señal detectable proporciona una indicación cuantitativa de la cantidad de genes de la enfermedad inflamatoria presentes en la muestra.

Alternativamente, el kit contiene una matriz de sustratos de ácidos nucleicos que comprenden una o más secuencias de ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos en la matriz identifican específicamente una o más secuencias de ácidos nucleicos representadas por genes de la enfermedad (véase las tablas 1-9). En diferentes realizaciones, se pueden identificar las expresiones de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 40 ó 50 o más de las secuencias representadas por los genes de enfermedad inflamatoria (véase las tablas 1-9) en virtud de la unión a la matriz. La matriz de sustratos puede estar sobre un sustrato sólido, es decir, un "chip" como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.744.305. Alternativamente, la matriz de sustratos puede ser una matriz en disolución, es decir, Luminex, Cyvera, Vitra y Quantum Dots' Mosaic.

El experto en la técnica puede hacer sondas de anticuerpos, ácidos nucleicos de forma rutinaria, es decir, oligonucleótidos, aptámeros, ARNip, oligonucleótidos de sentido contrario, contra cualquier gen relacionado con la enfermedad inflamatoria, listados en las tablas 1-9.

Otras realizaciones

Aunque esta invención se ha descrito junto con su descripción detallada, la descripción anterior se dirige a ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

Ejemplos

Ejemplo 1. Análisis de la expresión génica de ratón en sangre entera

Ensayo 1

Se recogieron muestras de sangre entera de 5 ratones macho y 5 hembra BALB/c semanalmente a lo largo de 3 semanas para evaluar la respuesta de la expresión génica longitudinal en sangre entera de murino. El análisis de la expresión génica se realizó por la PCR cuantitativa (QPCR) usando un panel de expresión de 24 genes de ratón (Precision Profile™) a medida para la inflamación (Tabla 3).

Los valores de ΔCt normalizados para los 10 ratones (BALB/c) a lo largo de un periodo de tiempo de 3 semanas se proporcionan en la tabla 10.

La variabilidad intersujetos dentro de los grupos individuales se determinó por el CV en % (coeficiente de variación) para los 10 animales semanalmente (tabla 10). Se observó que el CV en porcentaje era menor de 4%, con la excepción de un gen, PLAU, la semana 2. Estos datos demuestran una concordancia notable en los niveles de expresión génica en los 10 animales en cada grupo, semanalmente, durante las 3 semanas.

También se determinó la variabilidad intersujetos para los 3 grupos por el CV en % de los 10 animales a lo largo del periodo de tiempo total de 3 semanas. Se observó de nuevo, que los CV en porcentajes eran menos de 4%, con la excepción de un gen, MMP9 (tabla 10). Estos datos demuestran una consistencia notable en los niveles de

expresión génica en los 10 animales a lo largo del periodo de 3 semanas, que no era inesperada puesto que la variabilidad intersujetos observada semanalmente era pequeña.

5 Una comparación de los valores medios de ΔCt para cada gen las semanas 1, 2 y 3, era bastante similar, difiriendo como media en menos de 1 Ct, lo cual también está de acuerdo con el pequeño CV en % observado en todos los grupos.

Ensayo 2

10 Se estimularon ratones macho Webster Swiss con endotoxina bacteriana LPS después de 1 h de pretratamiento con vehículo o dexametasona. Se recogieron muestras de sangre entera a las 1,5, 4 y 24 h después de tratamiento con LPS, para evaluar la respuesta de la expresión génica. Además, se recogieron muestras de sangre entera de referencia de ratones no tratados. El análisis de expresión génica se realizó por la PCR cuantitativa (QPCR) para medir los niveles de expresión génica de los constituyentes seleccionados de un panel de expresión de 24 genes de ratón (Precision Profile™) a medida para la inflamación (tabla 3), estableciendo así perfiles de respuesta de ratón a la endotoxina LPS (+/- dexametasona) preliminares de sangre entera.

15 Los valores de ΔCt normalizados para todos los ratones en cada uno de los 7 grupos se proporcionan en la tabla 11. La variabilidad intersujetos dentro de grupos individuales se determinó por el CV en % (coeficiente de variación) de todos los animales en cada grupo (tabla 11). Los valores de CV en % demuestran una respuesta ligeramente más variable a la estimulación por LPS y dexametasona + LPS en cada uno de los grupos, respectivamente.

20 La respuesta de la expresión génica de los animales estimulados con LPS en todos los tiempos de medida comparada con los de los animales de control T_0 no tratados, se proporciona en la tabla 12 y las figuras 1A-1C. Las figuras 1A a 1C muestran la respuesta de la sangre entera estimulada con LPS a las 1,5 h (grupo 1), 4 h (grupo 2) y 24 h (grupo 3), respectivamente, en 3 grupos de ratones macho Swiss Webster para un panel de expresión de 24 genes para la inflamación (tabla 3). La respuesta de la expresión génica relativa para todos los animales dentro de cada uno de los 3 grupos era muy uniforme en todos los tiempos de medida, aunque la magnitud de la respuesta era variable.

25 La respuesta de la expresión génica de los animales estimulados con dexametasona + LPS comparada con la de los animales tratados con LPS, en los tiempos correspondientes, se proporciona en la tabla 13 y las figuras 2A-2C. Las figuras 2A-2C muestran la respuesta en sangre entera estimulada con LPS + dexametasona a las 1,5 h (grupo 4), 4 h (grupo 5) y 24 h (grupo 6), respectivamente, en 3 grupos de ratones macho Swiss Webster para un panel de expresión de 24 genes para la inflamación (tabla 3).

30 La respuesta de la expresión génica relativa para todos los animales en dos de los grupos era bastante uniforme (tiempos de medida de 1,5 y 24 h), aunque la magnitud de la respuesta era variable. Se observó que la respuesta relativa era ligeramente más variable en el tiempo de medida de 4 h.

35 La respuesta de la expresión génica relativa media de los grupos para los animales estimulados con LPS y LPS + dexametasona se proporciona en las tablas 14 y 15 y las figuras 3 y 4, respectivamente. La respuesta de la expresión génica media de los grupos para la estimulación con LPS, mostrada en la figura 3, demuestra un transcurso de tiempo de la respuesta discernible para muchos genes, después de tratamiento con LPS. La respuesta de la expresión génica media de los grupos para la estimulación con dexametasona + LPS, mostrada en la figura 4, demuestra una respuesta algo limitada del pretratamiento con dexametasona antes de la estimulación con LPS para los 3 tiempos de medida.

40 Basándose en estos estudios, se obtuvieron los perfiles preliminares de respuesta de ratón a la estimulación con LPS y LPS + dexametasona en sangre entera, como se muestra en las siguientes tablas 4, 5, 6, 7 y 8.

Ejemplo 2: Expresión génica en sangre entera humana y de ratón estimulada con LPS in vivo

45 La respuesta de la expresión génica en sangre entera de sujetos humanos (N=3) y murinos (N=9-10) expuestos a una sola dosis de endotoxina bacteriana (lipopolisacárido, LPS) se presenta en la tabla 16 y las figuras 5A-5C. Se recogieron muestras de sangre entera en 3 tiempos de medida después de la dosificación de LPS para todos los sujetos. Se muestra colectivamente una comparación de la respuesta humana y murina con respecto a la del control de referencia no tratado, en las figuras 5A-5C.

50 La respuesta de la expresión génica relativa en la sangre entera humana y murina a las 2 y 1,5 h después de LPS se muestra en la figura 5A para 17 genes. El patrón de respuesta para 9 de los 17 genes, específicamente, CD3Z, CD8A, HMOX1, HSPA1A, ICAM1, IL1RN, PLA2G7 SERPINE1 y TNFSF5, es muy similar entre sujetos humanos y murinos, aunque la magnitud de la respuesta para algunos de estos genes es variable. Dos genes, MMP9 y TGBF1 muestran una respuesta divergente en estos tiempos de medida. El resto de los genes difieren ligeramente en la magnitud de la respuesta o son algo variables en el patrón de respuesta.

55 Es interesante que algunos de los genes que presentan un patrón y magnitud similares de respuesta en el punto de medida más temprano de 2 h, muestran una respuesta divergente en los puntos de medida más tarde de 5 y 4 h,

tales como HSPA1A, ICAM1 y PLA2G7 (fig. 5B). Además y a diferencia del punto de medida más tempranos, CD14 y TIMP1 presentan ahora un patrón y magnitud de respuesta similares en este tiempo de medida posterior para los sujetos tanto humanos como murinos.

5 La magnitud de la respuesta de la expresión génica en los puntos de medida de 21 y 24 h (fig. 5C), ha disminuido para la mayoría de los genes en sujetos tanto humanos como murinos, volviendo hacia los niveles de referencia de expresión en muchos casos. Es interesante el cambio en el patrón de expresión observado para HMOX1 (tanto humano como murino) y MMP9 (murino) comparado con los dos tiempos de medida más tempranos. En resumen, la respuesta de la expresión génica en sangre entera al tratamiento con LPS in vivo para sujetos humanos y murinos, presenta un patrón y magnitud de respuesta similares para muchos genes proinflamatorias a lo largo de un periodo de tiempo de 24 h.

Ejemplo 3: Expresión génica en sangre entera humana estimulada con LPS in vivo e in vitro

15 La respuesta de la expresión génica en sangre entera de sujetos humanos (N=3) expuesta a una sola dosis de endotoxina bacteriana (lipopolisacárido, LPS) in vivo y en sangre humana entera tratada con LPS in vitro (N=1), se presenta en la tabla 17 y las figuras 6A-6C. Se recogieron muestras de sangre entera en 3 tiempos de medida después de la dosificación con LPS para todos los sujetos. Se muestra colectivamente una comparación de la respuesta in vivo e in vitro con respecto a la del control de referencia no tratado, en las figuras 6A-6C.

20 En el tiempo de medida de 2 h, 21 genes de 38 muestran un patrón de expresión sorprendentemente similar para las muestras tanto in vivo como in vitro (fig. 6A) para los 31 genes examinados. Para la mayoría de los genes, la magnitud de la expresión de la muestra in vitro es mayor que la observada in vivo. También se pueden observar algunas diferencias en la expresión, específicamente, los genes CSF3, F3 e IL10 son inducidos in vitro y permanecen sin cambiar in vivo.

La magnitud de la respuesta para muchos genes, tales como CXCL1, CXCL2, HMOX1, IL1A y PLA2G7 ha disminuido significativamente en el tiempo de medida de 5 h para las muestras in vivo a diferencia de la muestra in vitro (fig. 6B).

25 Finalmente, a las 21-24 h después de la dosis, los niveles de expresión han vuelto cerca de los valores de referencia para las muestras in vivo y han seguido disminuyendo para la muestra in vitro, aunque todavía se pueden observar niveles de expresión más altos para muchos genes, específicamente para VEGF (fig. 6C). En resumen, el patrón de la respuesta de la expresión génica en sangre entera a partir de la estimulación con LPS es sorprendentemente similar en los tiempos de medida más tempranos para las muestras in vivo e in vitro. La magnitud de la respuesta en los tiempos de medida más tardíos disminuye significativamente más rápidamente para muestras in vivo comparado con muestras in vitro.

Ejemplo 4: Expresión génica en sangre entera tratada con LPS de sujetos murinos (in vivo) y humanos (in vitro)

35 La respuesta de la expresión génica en la sangre entera de sujetos murinos (N=9-10) y humanos (N=1) expuesta a una sola dosis de endotoxina bacteriana (lipopolisacárido, LPS), in vivo e in vitro, respectivamente, se presenta en la tabla 18 y las figuras 7A-7C. Se recogieron muestras de sangre entera en 3 puntos de medida después de la dosificación de LPS para todos los sujetos. Se muestra colectivamente una comparación de la respuesta murina y humana con respecto a la del control de referencia no tratado, en las figuras 7A-7C, para los mismos 17 genes examinados en las figuras 5A-5C. El patrón de respuesta de la expresión génica observado para sujetos murinos (in vivo) y humanos (in vitro) es similar para 8 de los 17 genes en los tiempos de medida tempranos de 1,5 y 2 h, que incluyen CD3Z, CD8A, HOMX1, F3, ICAM1, IL1RN, TIMP1 y TKNFSF5. La magnitud de la respuesta es variable, dependiendo del tipo de muestra y del propio gen. Con la excepción de HSPA1A y ICAM1, el patrón de respuesta no había cambiado significativamente en los últimos tiempos de medida de 4 y 6 h.

45 Finalmente, la magnitud de la expresión se acerca a los niveles de referencia en el punto de medida de 24 h, con la excepción de VEGF. En resumen, la respuesta de la expresión génica para la sangre tratada con LPS de murino (in vivo) y ser humano (in vitro) puso de manifiesto un subconjunto de genes que presentaban un patrón de respuesta similar. Este subconjunto de genes variaba ligeramente de los definidos en las figuras 5A-5C, que compara los sujetos humanos estimulados con LPS in vivo.

50 La respuesta de la expresión génica en la sangre entera de sujetos murinos (N=9-10) y humanos (N=1) expuesta a una sola dosis de endotoxina bacteriana (lipopolisacárido, LPS) después de tratamiento previo con dexametasona, in vivo e in vitro, respectivamente, se presenta en la tabla 19 y las figuras 8A-8C. Se recogieron muestras de sangre entera en 3 tiempos de medida después de la dosificación de LPS para todos los sujetos. Se muestra colectivamente una comparación de la respuesta murina y humana con respecto a la del control de referencia no tratado, en las figuras 8A-8C, para los mismos 17 genes examinados en las figuras 5A-5C y 7A-7C.

55 La respuesta de la expresión génica para los sujetos murinos en los tiempos de medida de 1,5 y 4 h es muy similar para la mayoría de los genes, y presenta una inducción significativamente menor (figuras 8A-8B) cuando se compara con el tratamiento con LPS solo (fig. 7A-7B). Esto solo es cierto para la muestra de sangre humana in vitro, que presenta una reducción significativa en la expresión de la mayoría de los genes, en especial en el tiempo de

medida de 6 h. Se puede observar un patrón de expresión similar entre los dos tipos de muestras en la figura 8B para muchos de los genes, es decir, la inducción es en una dirección hacia abajo.

Ejemplo 5: Análisis de expresión génica de alta precisión de dos modelos murinos de artritis

5 Los cambios en la expresión génica en sangre entera se evaluaron en sujetos murinos control tratados con vehículo y tratados con fármaco en dos modelos murinos de artritis de acuerdo con los siguientes modelos de artritis:

Ratón transgénico KRN (K/BxN): suero de ratones transgénicos K/BxN usado para inducir la artritis en ratones hembra BALB/c (n=54).

Artritis inducida por colágeno (CIA): colágeno bovino de tipo II usado para inducir la artritis en ratones macho DBA/1 (n=54).

10 Grupos de 6 animales en las ramas de CIA y KRN del estudio, se trataron con control de vehículo o dexametasona en múltiples tiempos de medida después de inducir la artritis para evaluar el avance de la enfermedad y la respuesta al tratamiento con dexametasona. Además, se incluyeron grupos de animales, no tratados, que no han recibido tratamiento previo, en los valores de referencia y el día terminal para controlar los potenciales cambios relacionados con la edad en la expresión génica a lo largo de periodos de estudio prolongados. Los grupos de animales, tiempos
15 de medida y esquemas de tratamiento se resumen en las tablas 20A y 20B, respectivamente.

Se recogieron muestras de sangre entera de los animales por sangrado retroorbital en tiempos de medida seleccionados de acuerdo con los esquemas de estudio de artritis descritos en las tablas 10A y 10B, y se transfirieron a tubos de recolección de muestra que contenían una disolución de lisis 1,5X y RPMI. Las muestras se
20 procesaron en el ARN total y ADNc. El análisis de expresión génica se realizó por QPCR usando Precision Profile™ de 40 genes murinos a medida para la artritis reumatoide (tabla 9), que proporciona una caracterización molecular de la enfermedad en modelos murinos de CIA y KRN de artritis y respuesta al tratamiento con dexametasona. Se había previsto que estos modelos murinos proporcionarían una mejor comprensión de la respuesta molecular relevante de la inducción de artritis y su potencial correlación con el estado patológico humano.

Evaluación de sujetos murinos normales: ramas del estudio de CIA y KRN

25 Se establecieron los valores de referencia de sujetos murinos normales (representados como valores Ct o Δ Ct normalizados) para ratones macho DBA/1 (n=6 para la rama del estudio de CIA) y ratones hembra BALB/c (n=6 para la rama del estudio de KRN). En ambas ramas del estudio, se evaluó la respuesta de la expresión génica de sujetos murinos normales (sin tratamiento previo, no inmunizados y no tratados) en grupos de 6 cada uno, el día 0 y el día 60 para la rama de estudio de CIA, y el día 0 y día 21 para la rama de estudio de KRN (véase las tablas 20A y 20B).

30 Variabilidad intradiaria e interdiaria: sujetos murinos normales, rama de CIA

Se observó que la variabilidad dentro de grupos de ratones macho DB/1 normales (sin tratamiento previo, no inmunizados y no tratados) el día 0 (intradaria, n=6) o día 60 (intradaria, n=6) era estrecha (coeficiente de variación <5% (CV)) para la mayoría de los genes diana, como se muestra en la tabla 21A y tabla 22. Se observó que algunos genes diana, incluyendo F3 y VEGF, tenían mayor variabilidad (CV >5%), sin embargo, no se observaron genes
35 diana que tuvieran CV en % mayor que 7 (obsérvese que F3 es un gen diana con expresión de baja a sin expresión, por consiguiente se puede esperar una variabilidad mayor entre los ratones individuales).

Se observó que la variabilidad entre estos mismos grupos de ratones macho DBA/1 normales los días 0 y día 60 (interdías, n=12) era estrecha (CV<5%), con algunas excepciones, que incluían ARG2, CSPG2, F3, IL1RAP, y VEGF, como se indica en la tabla 21A y 22, que reflejan la mayor variabilidad de grupo o la diferencia moderada en
40 los grupos entre valores de Δ Ct. Cabe destacar que una comparación de los valores de Δ Ct medios para los grupos de ratones el día 0 y el día 60, puso de manifiesto diferencias de Δ Ct mayores de 0,5 Ct para la mayoría de los genes diana.

Alternativamente, cuando se comparan las repuestas de expresión génica individuales de los ratones macho DBA/1 normales el día 60 con respecto a la media de los ratones macho DBA/1 normales el día 0, se observó la expresión
45 consecuentemente aumentada (principalmente < 6 veces) entre los ratones DBA/1 en múltiples genes diana, como se muestra en las figuras 9A-9C (y tabla 24). También se observó una menor expresión en algunos genes diana seleccionados, sin embargo, no se encontró que esto fuera típicamente consistente entre todos los ratones DBA/1. (Obsérvese que la expresión de F3 es algo variable (baja o no hay) en los grupos de ratones el día 0 y el día 60, por lo tanto, al nivel de expresión relativo, la menor expresión de F3 observado entre todos los ratones DBA/1 (como se muestra en la figura 9B) debe interpretarse con precaución). Sin pretender estar ligados por ninguna teoría, estos
50 resultados pueden apoyar los potenciales cambios relacionados con la edad en la expresión génica a lo largo del periodo de estudio de 60 días.

Variabilidad intradiaria e interdiaria: sujetos murinos normales, rama de KRN

Se observó que la variabilidad dentro de grupos de ratones hembra BALB/c normales (sin tratamiento previo, no

inmunizados y no tratados) el día 0 (intradia, n=6) o día 60 (intradia, n=6) era estrecha (CV <5%) para todos los genes diana, como se muestra en la tabla 21B y tabla 23.

Se observó que la variabilidad entre estos mismos grupos de ratones hembra BALB/c normales los días 0 y 21 (interdías, n=12) era igualmente estrecha, como se indica en la tabla 21B y 23. Una comparación de los valores de ΔCt medios para los grupos de ratones el día 0 y el día 21, puso de manifiesto diferencias muy por debajo de 0,5 Ct para todos los genes diana, con excepción de ARG2 y SEPRINE1 (diferencias de ΔCt medias de 0,61 y 0,55 respectivamente, como se muestra en la tabla 21B y tabla 23) (obsérvese que F3 es un gen diana de expresión baja o que no expresa, por consiguiente se puede esperar mayor variabilidad a lo largo de los ratones individuales). Además, una comparación de las repuestas de expresión génica individuales de los ratones hembra BALB/c normales el día 21 con respecto a la media de los ratones hembra BALB/c normales el día 0, puso de manifiesto diferencias pequeñas en la expresión génica (< 2 veces) entre todos los genes diana como se muestra en las figuras 10A-10C (y tabla 25). Estos resultados apoyan una consistencia de los grupos de ratones como el nivel molecular a lo largo de este periodo de estudio más corto de 21 días.

Modelo de artritis CIA: Evolución de la enfermedad y respuesta al tratamiento con dexametasona

Ratones macho DBA/1 del modelo de CIA no tratados, tratados con vehículo o tratados con dexametasona de acuerdo con el esquema de estudio mostrado en la tabla 20A. Se evaluaron las respuestas de la expresión génica para el modelo murino de artritis inducida para los ratones no tratados el día 24 y los ratones tratados con vehículo los días 33, 42 y 60 para caracterizar la evolución de la enfermedad. Igualmente, se evaluaron las respuestas de la expresión génica para los ratones tratados con dexametasona los días 33, 42 y 60, para evaluar la respuesta al tratamiento con dexametasona.

Ratones DBA/1 no tratados y tratados con vehículo: evaluación de la evolución de la enfermedad:

La artritis inducida por colágeno de tipo II en ratones macho DBA/1 (tanto no tratados el día 24 como tratados con vehículo los días 33, 42 y 60) dieron como resultado cambios sustanciales y consistentes en la expresión génica con respecto al grupo de referencia normal medio (sin tratamiento previo, no inmunizados y no tratados el día 0), como se muestra en las figuras 11A-11C (y tabla 26).

Múltiples genes diana, incluyendo APAF1, ARG2, CASP3, CD14, CSPG2, IL1B, IL1R2, IL1RAP, MMP9, PADI4, PLA2G7, TGFB1, TLR2 y TLR4, presentaron inducción sostenida de la expresión que era consistente entre todos los ratones DBA/1 y tiempos de medida del estudio. Un pequeño subconjunto de genes (IL1RAP, MMP9, PADI4, y PLA2G7) presentaba niveles ligeramente disminuidos de expresión en los últimos tiempos de medida del estudio.

A diferencia de estos, varios genes diana tales como CD3Z, CD8A, F3, IFI16, TNFSF5 y TNF presentaban un patrón de supresión a lo largo del transcurso del estudio. Sin embargo, esto no era necesariamente consistente a lo largo de todos los ratones DBA/1 en un tiempo de medida del estudio. En general, estos estudios muestran que el perfil molecular para la CIA se caracteriza por respuestas de la expresión génica consistentes y sustanciales que se mantenían a lo largo del transcurso del estudio. Estos resultados son consistentes con estudios previos de CIA en ratones hembra DBA/1 (con y sin refuerzo con LPS).

Este transcurso del tiempo de CIA de la respuesta se comparó con 10 sujetos humanos con RA inestable que fracasaron con la terapia DMARD y estaban a punto de ser traspasados a la terapia anti-TNF (no se muestra el estudio). Se proporciona una comparación directa de la artritis inducida en sujetos murinos a lo largo del periodo de 60 días con una medida de un solo tiempo de medida en sujetos humanos con RA para genes diana seleccionados, en las figuras 11F y 11G (se diseñaron cebador-sondas específicas de la especie (humana y murina) y se usaron en estos estudios). Es notable la traducción entre especies y tiempos de medida en esta comparación limitada. Esto empieza a proporcionar algún entendimiento preliminar sobre la correlación de la inducción de la artritis en sujetos murinos y el estado patológico humano a nivel molecular.

Ratones DBA/1 tratados con fármaco: Evaluación de la respuesta a la dexametasona

El tratamiento con dexametasona de ratones macho DBA/1 se inició después de estar bien confirmados los síntomas de la artritis. La respuesta al tratamiento con dexametasona en ratones DBA/1 con artritis confirmada se evaluó comparando estos ratones macho DBA/1 tratados con fármaco con sus homólogos tratados con vehículo.

Las respuestas de la expresión génica de los ratones DBA/1 individuales al tratamiento con dexametasona los días 33, 42 y 60 con respecto a sus respectivos controles tratados con vehículo los días 33, 42 y 60, se proporcionan en las figuras 13A-13E (y tabla 28). La uniformidad o variabilidad de la respuesta de la expresión génica al tratamiento con dexametasona entre los sujetos murinos dependía del gen diana y del tiempo de medida.

Se observó que el tratamiento con dexametasona bloqueaba la expresión de genes diana seleccionados, que incluían ABCA1, CD3Z, MEF2C, NFKB1, TGFB1 y TNFSF5, entre tiempos de medida y sujetos murinos (con bloqueo de CD19 en los tiempos de medida más tardíos). A diferencia de esto, se observó que el tratamiento con dexametasona aumentaba la expresión de forma consistente entre todos los tiempos de medida y los sujetos murinos en otros genes diana, tales como IL1B, IL1RAP y SERPINE1.

5 Genes diana adicionales presentaban uniformidad de respuesta en el efecto de bloqueo o mayor expresión que era más específica del tiempo de medida. Por ejemplo, HSAP1A presentaba expresión aumentada uniformemente los días 33 y 60, con respuestas más variables el día 33. El tratamiento con dexametasona bloqueaba de forma consistente la expresión de TLR2 el día 33, aunque se observó expresión aumentada consistente los días 42 y 60. A pesar de alguna variabilidad de sujetos murinos individuales, se puede observar una tendencia similar a TLR2 para otros genes diana tales como CSPG2, HMOX1, MMP9, PAD14 y PLA2G7.

10 Dada la biodisponibilidad de los grupos de ratones DBA/1 no tratados, tratados con vehículo y tratados con dexametasona el día 60, se hizo una comparación de los grupos de ratones DBA/1 tratados con respecto a los no tratados este día final. Las respuestas de la expresión génica de ratones DBA/1 individuales al tratamiento con vehículo o dexametasona con respecto al grupo normal medio del tiempo correspondiente (sin tratamiento previo, no inmunizados y no tratados, el día 60) se proporciona en las figuras 14A-14E (y tabla 29). Esta expresión relativa adicional vista apoya más las observaciones previas hechas a partir de las comparaciones de los ratones DBA/1 tratados con dexametasona con respecto a sus homólogos tratados con vehículo (figuras 5A-5E) en este tiempo de medida específico (día 60).

15 Modelo de artritis KRN: Evolución de la enfermedad y respuesta al tratamiento con dexametasona

20 Ratones hembra BALB/c del modelo de KRN no tratados, tratados con vehículo o tratados con dexametasona de acuerdo con el esquema de estudio mostrado en la tabla 20B. Se evaluaron las respuestas de la expresión génica para el modelo murino de artritis inducida para los ratones no tratados el día 3 y los ratones tratados con vehículo los días 7, 14 y 21 para caracterizar la evolución de la enfermedad. Igualmente, se evaluaron las respuestas de la expresión génica para los ratones tratados con dexametasona los días 7, 14 y 21, para evaluar la respuesta al tratamiento con dexametasona.

Ratones BALB/c no tratados y tratados con vehículo: evaluación de la evolución de la enfermedad:

25 La inducción de artritis por transferencia de suero en ratones hembra BALB/c (tanto no tratados el día 3 como tratados con vehículo los días 7, 14 y 21) dio como resultado cambios modestos pero consistentes en la expresión génica con respecto al grupo de referencia normal (sin tratamiento previo, no inmunizados y no tratados el día 0), como se muestra en las figuras 12A-12E (y tabla 27). En general, se observó que las respuestas de la expresión génica dependían mucho del tiempo. En algunos casos, genes diana tales como CASP3, CSPG2, HMOX1, MMP9, PADI4 y TLR2 mostraron un patrón de inducción consistente de expresión génica los días 3, 7 y 14, seguido de supresión de la expresión génica el día 21. En otros casos, muchos genes diana tales como APAF1, CASP1, CD3Z, CD86, CD8A, ICAM1, IFI16, IL1B, NFKB1, PTPRC, TLR4, TNFSF5 y TNF, presentaron patrones de supresión temprana (día 3), seguido de patrones consistentes de inducción los días 7 y 14, con una vuelta a la supresión el día 21.

35 El perfil molecular para la inducción de artritis por transferencia de suero se caracteriza aquí por respuestas de la expresión génica más moderadas con diferentes inflexiones en la respuesta (de menos a mayor expresión y viceversa) a lo largo del transcurso del estudio más corto. Otra vez, estos resultados están de acuerdo con estudios previos (no se muestran los datos) de inducción de artritis por transferencia de suero en diferentes cepas de ratones (hembra DBA/1).

40 Como se hizo previamente en el modelo de CIA, este modelo de inducción de artritis por transferencia de suero se comparó con la afección de RA humana usando el estudio de 10 sujetos humanos con RA inestable que fracasaron con la terapia DMARD y estaban a punto de ser traspasados a la terapia anti-TNF. Se proporciona una comparación directa de la artritis inducida en sujetos murinos a lo largo del periodo de 21 días con una medida de un solo tiempo de medida en sujetos humanos con RA para los mismos genes diana seleccionados, en las figuras 12F y 12G. En este caso, la traducción de la respuesta entre especies es igualmente notable, sin embargo dependiente del tiempo de medida a lo largo del transcurso del tiempo del modelo de KRN.

45 Ratones BALB/c tratados con fármaco: Evaluación de la respuesta a la dexametasona

Similar al modelo de CIA, el tratamiento con dexametasona de ratones hembra BALB/c se inició después de estar bien confirmados los síntomas de la artritis. La respuesta al tratamiento con dexametasona en ratones BALB/c con artritis confirmada se evaluó comparando estos ratones hembra BALB/c tratados con fármaco con sus homólogos tratados con vehículo.

50 Las respuestas de la expresión génica de los ratones BALB/c individuales al tratamiento con dexametasona los días 7, 14 y 21 con respecto a sus respectivos controles tratados con vehículo los días 7, 14 y 21, se proporcionan en las figuras 15A-15E (y tabla 30). La uniformidad de las respuestas de la expresión génica al tratamiento con dexametasona entre los sujetos murinos era dominante entre los tiempos de medida de los genes diana.

55 Se observó que el tratamiento con dexametasona aumentaba de forma consistente la expresión entre todos los sujetos murinos y tiempos de medida para múltiples genes diana, que incluían APAF1, ARG2, CASP1, CASP3, CD14, CSPG2, HMOX1, HSPA1A, ICAM, IL1B, IL1R2, IL1RAP, IL1RN, JUN, PADI4, PLA2G7, SERPINE1, TLR2, TLR4 y VEGF. Múltiples genes diana adicionales demostraron este mismo patrón de mayor expresión, sin embargo,

se observó una magnitud de inducción algo menor o más variabilidad individual (por ejemplo, véase ABCA1, CCR3, CD86, MMP9 y TNF). Aunque se observó algo de efecto de bloqueo (CD19, CD3Z, MEF2C y TNFSF5), este dependía de los tiempos de medida y estaba sometido a la variabilidad de los ratones BALB/c individuales.

5 La biodisponibilidad de los grupos de ratones BALB/c no tratados, tratados con vehículo y tratados con dexametasona el día 21, proporcionó una oportunidad para comparar los grupos de ratones BALB/c tratados con respecto a los no tratados este día final. Las respuestas de la expresión génica de ratones BALB/c individuales al tratamiento con vehículo o dexametasona con respecto al grupo normal medio del tiempo correspondiente (sin tratamiento previo, no inmunizados y no tratados el día 21) se proporciona en las figuras 16A-16E (y tabla 31). Esta expresión relativa adicional vista apoya más la expresión inducida de forma consistente observada previamente en los homólogos (figuras 15A-15E) en este tiempo de medida específico (día 21).

10 Estos datos apoyan la conclusión de los autores de la invención de que los perfiles de expresión génica con suficiente precisión y calibración como se describe en la presente memoria para seres humanos y otros mamíferos tales como roedores (1) pueden determinar subpoblaciones de individuos con un estado biológico conocido; (2) se pueden usar para el seguimiento de la respuesta de pacientes a la terapia; (3) se pueden usar para evaluar la eficacia y seguridad de la terapia; y (4) se pueden usar para guiar el tratamiento médico de un paciente ajustando la terapia para acercar uno o más perfiles de expresión génica a un conjunto de valores diana, que pueden ser valores normativos u otros valores deseados o que se puedan obtener. Los autores de la invención han mostrado que los perfiles de expresión génica pueden proporcionar información significativa incluso cuando se obtienen del tratamiento ex vivo de sangre u otros tejidos. Los autores de la invención también han mostrado que los perfiles de expresión génica obtenidos de sangre entera periférica son informativos de una amplia variedad de estados que no están asociados directa ni típicamente con la sangre.

15 Además, en realizaciones de la presente invención, los perfiles de expresión génica también se pueden usar para la caracterización e identificación temprana (incluyendo estados presintomáticos) de estados inflamatorios asociados con estados biológicos, incluyendo la enfermedad. Esta caracterización incluye la discriminación entre individuos sanos y no sanos, infecciones bacterianas y víricas, estados biológicos autoinmunes y patógenos, subtipos específicos de agentes y/o estados patógenos, etapas de la historia natural del estado biológico (p. ej., temprano o tarde) y evaluación de pronóstico. El uso de la metodología algorítmica y estadística discutida antes para lograr dicha identificación y discriminar de esta forma, está dentro del alcance de las diferentes realizaciones de la presente memoria.

20 La tecnología de esta solicitud también incluye métodos para identificar paneles distintivos para roedores que se han usado para modelizar cómo responderán seres humanos a diferentes agentes terapéuticos, productos nutracéuticos, circunstancias, factores externos tales como el entorno, localización, infecciones secundarias y/o afecciones. Esto se usa a su vez para identificar y seguir tratamientos terapéuticos, incluyendo tratamientos profilácticos y de mantenimiento, para estados biológicos humanos de interés.

35 Las referencias citadas a continuación se incorporan en la presente memoria por referencia.

Referencias

Magidson, J. GOLDMineR User's Guide (1998). Belmont, MA: Statistical Innovations Inc.

Vermunt J.K. and J. Magidson. Latent GOLD 4.0 User's Guide. (2005) Belmont, MA: Statistical Innovations Inc.

Vermunt J.K. and J. Magidson. Technical Guide for Latent GOLD 4.0: Basic and Advanced (2005)

40 Belmont, MA: Statistical Innovations Inc.

Vermunt J.K. and J. Magidson. Latent Class Cluster Analysis in (2002) J. A. Hagenaars and A. L. McCutcheon (eds.), Applied Latent Class Analysis, 89-106. Cambridge: Cambridge University Press.

Magidson, J. "Maximum Likelihood Assessment of Clinical Trials Based on an Ordered Categorical Response." (1996) Drug Information Journal, Maple Glen, PA: Drug Information Association, Vol. 30, No. 1, pp 143-170.

45

Tabla 1. Panel de expresión génica de la inflamación

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
IL1A	Interleuquina I, alfa	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible en variedad de células. En general citosólica y liberada solo durante la enfermedad inflamatoria grave
IL1B	Interleuquina 1, beta	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible por muchos tipos de células, secretada
TNFA	Factor de necrosis tumoral, alfa	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatorio, TH1, media la respuesta del hospedante a estímulos bacterianos, regula el crecimiento y diferenciación celular
IL6	Interleuquina 6 (interferón, beta 2)	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, citoquina TH2, regula el sistema hematopoyético y activación de la respuesta innata
IL8	Interleuquina 8	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria, mediador inflamatorio secundario principal, adhesión celular, transducción de señales, señalización de célula-célula, angiogénesis, sintetizado por una amplia variedad de tipos de células
IFNG	Interferón gamma	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, citoquina TH1, mediador inflamatorio no específico, producido por linfocitos T activados
IL2	Interleuquina 2	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Factor de crecimiento de linfocitos T, expresada por linfocitos T activados, regula la activación y diferenciación de linfocitos; inhibe la apoptosis, citoquina TH1
IL12B	Interleuquina 12 p40	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; mediador de inmunidad innata, citoquina TH1, requiere coestimulación con IL-18 para inducir IFN-g
IL15	Interleuquina 15	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; media la activación de linfocitos T, inhibe la apoptosis, efecto sinérgico con IL-2 para inducir IFN-g y TNF-a
IL18	Interleuquina 18	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria, TH1, inmunidad innata y adquirida, promueve la apoptosis, requiere coestimulación con IL-1 o IL-2 para inducir citoquinas TH1 en linfocitos T y NK
IL4	Interleuquina 4	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Antiinflamatoria; TH2; suprime citoquinas proinflamatorias, aumenta la expresión de IL-1RN, regula la activación de linfocitos
IL5	Interleuquina 5	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Factor estimulador de eosinófilos; estimula la diferenciación de linfocitos B tardía para la secreción de Ig
IL10	Interleuquina 10	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Antiinflamatoria; TH2; suprime la producción de citoquinas proinflamatorias
IL13	Interleuquina 13	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Inhibe la producción de citoquinas inflamatorias
IL1RN	antagonista del receptor de interleuquina 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL1; Antiinflamatoria; inhibe la unión de IL-1 al receptor de IL-1 por unión al receptor sin actividad estimuladora de tipo IL-1

ES 2 419 059 T3

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
IL18BP	Proteína de unión a IL-18	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Implicada en la inhibición de las respuestas de citoquinas TH1 tempranas
TGFB1	Factor de crecimiento transformante, beta 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, anti-apoptótica; señalización célula-célula, puede inhibir o estimular el crecimiento celular
IFNA2	Interferón, alfa 2	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	interferón producido por macrófagos con efectos antivíricos
GRO1	Oncogén GRO1 (actividad estimuladora del crecimiento de melanoma, alfa)	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como SCYB1; quimiotáctico para neutrófilos
GRO2	Oncogén GRO2	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como MIP2, SCYB2; proteína inflamatoria de macrófagos producida por monocitos y neutrófilos
TNFSF5	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 5	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Ligando para CD40; expresado en la superficie de linfocitos T. Regula la función de linfocitos B enganando CD40 sobre la superficie de linfocitos B
TNFSF6	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 6	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como FasL; Ligando para el antígeno FAS; transduce señales apoptóticas a células.
CSF3	Factor estimulador de colonia 3 (granulocitos)	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como GCSF; citoquina que estimula el desarrollo de granulocitos
B7	Proteína B7	Activación y señalización celular	Proteína reguladora que puede estar asociada con lupus
CSF2	Factor estimulador de colonia de granulocitos y monocitos	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como GM-CSF; factor de crecimiento hematopoyético; estimula el crecimiento y diferenciación de células precursoras hematopoyéticas de diferentes linajes, incluyendo granulocitos, macrófagos, eosinófilos y eritrocitos
TNFSF13B	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 13b	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Factor activador de linfocitos B, familia de TNF
TACI	Activante transmembrana e interaccionador con CAML	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Modulador del factor activante de linfocitos T y modulador de ciclofilina de calcio
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Producido por monocitos
ICAM1	Molécula de adhesión intercelular 1	Adhesión celular / Proteína de matriz	Molécula de superficie celular endotelial; regula la adhesión y tráfico celulares, regulada en exceso durante la estimulación de citoquinas
PTGS2	Prostaglandina-endoperóxido sintasa 2	Enzima / Rédox	También conocida como COX2; Proinflamatoria, miembro de la ruta de conversión de ácido araquidónico en prostanoide; inducida por citoquinas proinflamatorias

ES 2 419 059 T3

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
NOS2A	Óxido nítrico sintasa 2A	Enzima / Rédox	También conocida como iNOS; produce NO que es bactericida/tumoricida
PLA2G7	Fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)	Enzima / Rédox	Factor activador de plaquetas
HMOX1	Hemo-oxigenasa (descicladora) 1	Enzima / Rédox	Inducible por endotoxinas
F3	F3	Enzima / Rédox	También conocida como tromboplastina, Factor de coagulación 3; glicoproteína de superficie celular responsable de la catálisis de coagulación
CD3Z	Antígeno CD3, polipéptido zeta	Marcador celular	Glicoproteína de superficie de linfocitos T
PTPRC	proteína tirosina fosfatasa, tipo de receptor, C	Marcador celular	También conocida como CD45; media la activación de linfocitos T
CD14	Antígeno CD14	Marcador celular	Receptor de LPS usado como marcador para monocitos
CD4	Antígeno CD4 (p55)	Marcador celular	Marcador de linfocitos T auxiliares
CD8A	Antígeno CD8, polipéptido alfa	Marcador celular	Marcador de linfocitos T supresores
CD19	Antígeno CD19	Marcador celular	También conocido como Leu 12; factor de crecimiento de linfocitos B
HSPA1A	Proteína de choque térmico 70	Señalización y activación celular	Proteína de choque térmico de 70 kDa
MMP3	Metaloproteinasa 3 de la matriz	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	También conocida como estromelisin; degrada fibronectina, laminina y gelatina
MMP9	Metaloproteinasa 9 de la matriz	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	También conocida como gelatinasa B; degrada moléculas de la matriz extracelular, secretada por neutrófilos estimulados por IL-8
PLAU	Activador de plasminógeno, uroquinasa	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	También conocido como uPA; escinde el plasminógeno en plasmina (una proteasa responsable de la degradación de la matriz extracelular no específica)
SERPINE1	Inhibidor de serina (o cisteína) proteasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 1	Proteinasa/ Inhibidor de proteinasa	Inhibidor del activador de plasminógeno-1 / PAI-1
TIMP1	Inhibidor tisular de metaloproteinasa 1	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	Se une de forma irreversible e inhibe metaloproteinasas, tales como colagenasa
C1QA	Componente del complemento 1, subcomponente q, polipéptido alfa	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	Sistema del complemento del suero; forma complejo C1 con las proenzimas c1r y c1s
HLA-DRB1	Complejo principal de histocompatibilidad, clase II, DR beta 1	Histocompatibilidad	Se une al antígeno para presentación a células CD4+

Tabla 2. Panel de expresión génica de artritis reumatoide o afecciones inflamatorias relacionadas con la artritis reumatoide

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
APAF1	Factor activador de proteasa apoptótica 1	Péptido activador de proteasas	El citocromo c se une a APAF1, produciendo la activación de CASP3, conduciendo a la apoptosis. También puede facilitar la autoactivación de la procaspasa 9
BCL2	CLL linfocito B / linfoma 2	Inhibidor de apoptosis - control del ciclo celular - oncogénesis	Bloquea la apoptosis interfiriendo con la activación de caspasas
BPI	Proteína bactericida/aumentadora de la permeabilidad	Proteasa unida a membrana	Proteína de unión a LPS; citotóxica para muchos organismos Gram negativos; encontrada en células mieloides
C1QA	Componente del complemento 1, subcomponente q, polipéptido alfa	Proteinasa/ Inhibidor de proteinasa	Sistema del complemento del suero; forma complejo C1 con las proenzimas c1r y c1s
CASP1	Caspasa 1	Proteinasa	Activa IL1B; estimula la apoptosis
CASP3	Caspasa 3	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	Implicada en la cascada de activación de caspasas responsables de la apoptosis - escinde CASP6, CASP7, CASP9
CASP9	Caspasa 9	Proteinasa	Se une con APAF1 para convertirse en activada; escinde y activa CASP3
CCL1	Ligando de quimiocina 1 (motivo C-C)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Secretado por linfocitos T activados; quimiotáctico para monocitos, pero no neutrófilos; se une a CCR8
CCL2	Ligando de quimiocina 2 (motivo C-C)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Quimiocina CCR2; Recluta monocitos en zonas de lesión e infección; regulado en exceso en inflamación hepática; estimula la producción de IL-4; implicado en enfermedades que implican la infiltración de monocitos, basófilos de tejidos (p. ej., psoriasis, artritis reumatoide, aterosclerosis)
CCL3	Ligando de quimiocina 3 (motivo C-C)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como: MIP1-alfa; quimiocina que se une a CCR1, CCR4 y CCR5; factor supresor de VIH principal producido por células CD8.
CCL4	Ligando de quimiocina 4 (motivo C-C)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Monoquina inflamatoria y quimiotáctica; se une a CCR5 y CCR8
CCL5	Ligando de quimiocina 5 (motivo C-C)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Se une a CCR1, CCR3 y CCR5 y es un quimioattractor para monocitos de la sangre, linfocitos T auxiliares de memoria y eosinófilos; un factor supresor de VIH principal producido por linfocitos T CD8-positivos

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
CCR3	Receptor de quimiocina 3 (motivo C-C)	Receptor de quimiocina	Receptor de quimiocina de tipo C-C (receptor de eotaxina) se une a eotaxina, eotaxina-3, MCP-3, MCP-4, SCYA5/RANTES y mip-1 delta mediando así el flujo de calcio intracelular. Correceptor alternativo con CD4 para la infección por VIH-1. Implicada en el reclutamiento de eosinófilos. Principalmente un receptor de quimiocinas de células Th2.
CD14	Antígeno CD14	Marcador celular	Receptor de LPS usado como marcador de monocitos
CD19	Antígeno CD19	Marcador celular	También conocido como Leu 12; factor de crecimiento de linfocitos B
CD3Z	Antígeno CD3, polipéptido zeta	Marcador celular	Glicoproteína de superficie de linfocitos T
CD4	Antígeno CD4 (p55)	Marcador celular	Marcador de linfocitos T auxiliares
CD86	Antígeno CD 86 (ligando de antígeno cD 28)	Señalización y activación celular	También conocido como B7-2; proteína de membrana encontrada en linfocitos B y monocitos; señal coestimuladora necesaria para la proliferación de linfocitos T a través de la producción de IL-2.
CD8A	Antígeno CD8, polipéptido alfa	Marcador celular	Marcador de linfocitos T supresores
CKS2	Subunidad 2 reguladora de proteína quinasa CDC28	Señalización y activación celular	Esencial para la función de las quinasas dependientes de ciclina
CSF2	Factor estimulador de la colonia de granulocitos y monocitos	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como GM-CSF; factor de crecimiento hematopoyético; estimula el crecimiento y diferenciación de células precursoras hematopoyéticas de diferentes linajes, incluyendo granulocitos, macrófagos, eosinófilos y eritrocitos
CSF3	Factor estimulador de colonia 3 (granulocitos)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como GCSF; controla la producción, diferenciación y función de granulocitos
CXCL1	Ligando de quimiocina 1 (motivo C-X-C-)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad estimuladora de crecimiento de melanoma, alfa; citoquina inducible por activación proinflamatoria quimiotáctica
CXCL3	Ligando de quimiocina 3 (motivo C-X-C-)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Citoquina inducible por activación proinflamatoria quimiotáctica, que actúa principalmente sobre células hematopoyéticas en procesos inmunorreguladores, también puede tener una función en la inflamación y ejerce sus efectos sobre células endoteliales de una forma autocrina.
CXCL10	Ligando de quimiocina 10 (motivo C-X-C-)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como: Gamma IP10; citoquina inducible por interferón IP10; SCYB10; ligando para CXCR3; la unión produce estimulación de monocitos, células NK; induce la migración de linfocitos T
DPP4	Dipeptidil peptidasa 4	Proteína de membrana; exopeptidasa	Elimina dipéptidos de prolina N-terminales no modificados; tiene una función en la activación de linfocitos T
ELA2	Elastasa 2, neutrófilo	Proteasa	Modifica las funciones de células NK, monocitos y granulocitos

ES 2 419 059 T3

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
HMOX1	Hemo oxigenasa (descicladora) 1	Enzima / Rédox	Inducible por endotoxinas
HSPA1A	Proteína de choque térmico 70	Señalización y activación celular	Proteína de choque térmico de 70 kDa; chaperona molecular, estabiliza ARNm rico en AU
HIST1H1C	Histo 1, Hic	Proteína nuclear básica	Responsable de la estructura del nucleosoma en la fibra cromosómica en eucariotas; se puede atribuir a la modificación de proteínas que contienen nitroserina y su inmunorreactividad frente a anticuerpos contra nitroserina
ICAM1	Molécula de adhesión intracelular 1	Adhesión celular / Proteína de matriz	Molécula de superficie celular endotelial; regula la adhesión y tráfico celulares, no regulada durante la estimulación por citoquinas
IFI16	Proteína inducible por interferón gamma 16	Señalización y activación celular	Represor transcripcional
IFNA2	Interferón, alfa 2	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Interferón producido por macrófagos con efectos antivíricos
IFNG	Interferón, Gamma	Citoquinas / Quimiocinas / Factores de crecimiento	Actividad pro y anti-inflamatoria; citoquina TH1; mediador inflamatorio no específico; producido por linfocitos T activados.
IL10	Interleuquina 10	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Anti-inflamatoria; TH2; suprime la producción de citoquinas proinflamatorias
IL12B	Interleuquina 12 p40	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; mediador de la inmunidad innata, citoquina TH1, requiere coestimulación con IL-18 para inducir IFN-g
IL13	Interleuquina 13	Citoquinas / Quimiocinas / Factores de crecimiento	Inhibe la producción de citoquinas inflamatorias
IL18	Interleuquina 18	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria, TH1, inmunidad innata y adquirida, promueve la apoptosis, requiere coestimulación con IL-1 o IL-2 para inducir citoquinas TH1 en linfocitos T y células NK
IL18RI	Receptor 1 de interleuquina 19	Proteína de membrana	Receptor para interleuquina 18; por unión al agonista conduce a la activación de NFKB-B; pertenece a la familia de IL1 pero no se une a IL1A o IL1B.
IL1A	Interleuquina 1, alfa	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible en variedad de células. En general citosólica y liberada solo durante la enfermedad inflamatoria grave
IL1B	Interleuquina 1, beta	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible por muchos tipos de células, secretada

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
IL1R1	Receptor de interleuquina 1, tipo I	Señalización y activación celular	También conocido como: CD12 o IL1R1RA; Se une a las 3 formas de interleuquina-1 (IL1A, IL1B y IL1RA). La unión del agonista conduce a la activación de NFKB
IL1RN	Antagonista del receptor de interleuquina 1	Citoquinas / Quimiocinas / Factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL1; Anti-inflamatorio; inhibe la unión del receptor de IL-1 a la IL-1 por unión al receptor sin estimular la actividad de tipo IL-1
IL2	Interleuquina 2	Citoquinas / Quimiocinas / Factores de crecimiento	Factor de crecimiento de linfocitos T, expresada por linfocitos T activados, regula la activación y diferenciación de linfocitos; inhibe la apoptosis, citoquina TH1
IL4	Interleuquina 4	Citoquinas / Quimiocinas / Factores de crecimiento	Anti-inflamatoria; TH2; suprime citoquinas proinflamatorias, aumenta la expresión de IL-1RN, regula la activación de linfocitos
IL5	Interleuquina 5	Citoquinas / Quimiocinas / Factores de crecimiento	Factor estimulador de eosinófilos; estimula la diferenciación de linfocitos B tardíos para la secreción de Ig
IL6	Interleuquina 6 (interferón, beta 2)	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, citoquina TH2, regula el sistema hematopoyético y activación de la respuesta innata
IL8	Interleuquina 8	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria, mediador inflamatorio secundario principal, adhesión celular, transducción de señales, señalización de célula-célula, angiogénesis, sintetizado por una amplia variedad de tipos de células
IRF7	Factor regulador de interferón 7	Factor de transcripción	Regula la transcripción de genes de interferón por unión específica a la secuencia de ADN. Diversas funciones incluyen la activación mediada por virus del interferón y la modulación del crecimiento, diferenciación, apoptosis celulares, y actividad del sistema inmunitario.
LTA	LTA (linfotóxina alfa)	Citoquina	Citoquina secretada por linfocitos y citotóxica para una variedad de células tumorales; activa in vitro e in vivo
LTB	Linfotóxina beta (TNFSF3)	Citoquina	Inductora de respuesta inflamatoria y desarrollo de tejido linfoide normal
JUN	Homólogo del oncogén del virus de sarcoma aviar 17 v-jun	Factor de transcripción - unión a ADN	Proto-oncoproteína; componente del factor de transcripción AP-1 que interactúa directamente con secuencias de ADN diana para regular la expresión génica
MIF	Factor inhibidor de la migración de macrófagos	Factor de señalización y crecimiento celular	También conocido como; GIF; linfoquina, reguladores de funciones de macrófagos por supresión de efectos antiinflamatorios de glucocorticoides
MMP9	Metaloproteínasa de la matriz 9	Proteínasa / Inhibidor de proteínasa	También conocida como gelatinasa B; degrada moléculas de la matriz extracelular, secretada por neutrófilos estimulados por IL-8

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
N33	Supresor tumoral de cáncer de próstata putativo	Supresor tumoral	Proteína de membrana integral. Asociado con eliminación homocigótica en cáncer de próstata metastático.
NFKB1	Factor nuclear 1 del potenciador del gen del polipéptido de la cadena ligera kappa en linfocitos B (p105)	Factor de transcripción	p105 es el precursor de la subunidad p50 del factor nuclear NFKB, que se une a la secuencia consenso kappa-b situada en la región potenciadora de genes implicada en la respuesta inmunitaria y reacciones en fase aguda; el precursor no se une al propio ADN
NFKBIB	Inhibidor del factor nuclear del potenciador del gen del polipéptido de la cadena ligera kappa en linfocitos B, beta	Regulador de la transcripción	Inhibe/regula la actividad del complejo NFKB atrapando el NFKB en el citoplasma. Los restos de serina fosforilados marcan la proteína NFKBIB para la destrucción permitiendo así la activación del complejo NFKB.
PF4	Factor plaquetario 4 (SCYB4)	Quimiocina	PF4 es liberado durante la agregación de plaquetas y es quimiotáctico para neutrófilos y monocitos. La función fisiológica principal de PF4 parece que es la neutralización de moléculas de tipo heparina en la superficie endotelial de vasos sanguíneos, inhibiendo así la actividad de antitrombina III local y promoviendo la coagulación.
PI3	Inhibidor de proteinasa 3 derivado de la piel	Inhibidor de proteinasa - proteína de unión a matriz extracelular	También conocido como SKALP; Inhibidor de proteinasa encontrado en la epidermis de varias enfermedades dérmicas inflamatorias; su expresión se puede usar como un marcador de irritación de la piel
PLA2G7	Fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)	Enzima / Rédox	Factor activador de plaquetas
PTGS2	Prostaglandina-endoperóxido sintasa 2	Enzima	Citoquina secretada por linfocitos y citotóxica para una variedad de células tumorales; activa in vitro e in vivo
PTX3	Gen relacionado con pentaxina, inducido rápidamente por IL-1 beta	Proteína de fase aguda	Inductor de la respuesta inflamatoria y desarrollo tisular linfóide normal
RAD52	Homólogo de RAD52 (S. cerevisiae)	Proteína de unión a ADN	Implicado en la reparación de la rotura de ADN bicatenario y recombinación meiótica / mitótica
SERPINE1	Inhibidor de serina (o cisteína) proteasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 1	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	Inhibidor del activador de plasminógeno-1 / PAI-1
SLC7A1	Familia de vehículos soluto 7, miembro 1	Proteína de membrana; permeasa	Permeasa de alta afinidad, baja capacidad, implicada en el transporte de aminoácidos con carga positiva
STAT3	Transducción de señales y activador de transcripción 3	Factor de transcripción	También conocido como APRF: Factor de transcripción para genes de respuesta en fase aguda; rápidamente activado en respuesta a determinadas citoquinas y factores de crecimiento; se une a elementos de respuesta IL6
TGFB1	Factor de crecimiento transformante, beta 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, antiapoptótico; señalización de célula-célula, puede inhibir o estimular el crecimiento celular

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
TGFBR2	Receptor de factor de crecimiento transformante, beta II	Proteína de membrana	También conocido como: TGFR2; proteína de membrana implicada en la señalización y activación celular, ser/thr proteasa; se une a DAXX.
TIMP1	Inhibidor tisular de metaloproteínasa 1	Proteínasa / Inhibidor de proteínasa	Se une de forma irreversible e inhibe metaloproteínas, tales como colagenasa
TLR2	Receptor 2 similar a Toll	Señalización y activación celular	Mediador de la señalización inducida por peptidoglicano y ácido lipoteicoico
TNF	Factor de necrosis tumoral	Citoquina / ligando del receptor del factor de necrosis tumoral	Regulación negativa de la acción de la insulina. Producido en exceso por tejido adiposo de individuos obesos - aumenta la fosforilación de IRS-1 y disminuye la actividad de la quinasa del receptor de insulina.
TNFRSF7	Superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral, miembro 7	Proteína de membrana; receptor	Receptor para CD27L; puede tener una función en la activación de linfocitos T
TNFSF13B	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 13b	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Factor de activación de linfocitos B, familia de TNF
TNFRSF13B	Superfamilia de factores de necrosis tumoral, miembro 13, subunidad beta	Citoquinas - quimiocinas factores de crecimiento	Factor de activación de linfocitos B, familia de TNF
TNFSF5	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 5	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Ligando para CD40; expresado en la superficie de linfocitos T. Regula la función de linfocitos B atrapando CD40 sobre la superficie de linfocitos B.
TNFSF6	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 6	Citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	También conocido como FasL; Ligando para antígeno FAS; transduce señales apoptóticas en células

Tabla 3. Panel de expresión génica de 24 genes de ratón (Precision Profile™) para la inflamación

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
APAF1 M	Factor activador de proteasa apoptótica 1	Activador de proteasa	El citocromo c se une a APAF1, produciendo la activación de CASP3, conduciendo a la apoptosis. También puede facilitar la autoactivación de la procaspasa 9.
ARG2 M	Arginasa II	Enzima / Rédox	Cataliza la hidrólisis de arginina en ornitina y urea; puede tener una función en la regulación por disminución de la síntesis de óxido nítrico
CASP3 M	Caspasa 3	Proteínasa	Implicada en la cascada de activación de las caspasas responsables de la apoptosis, escinde CASP6, CASP7, CASP9
CCR3 M	Receptor de quimiocina 3 (motivo C-C)	Receptor de quimiocina	Receptor de quimiocina de tipo C-C (receptor de eotaxina) se une a eotaxina, eotaxina-3, MCP-3, MCP-4, SCYA5/RANTES y mip-1 delta mediando así el flujo de calcio intracelular. Correceptor alternativo con CD4 para la infección por el VIH-1. Implicado en el reclutamiento de eosinófilos. Principalmente un receptor de quimioquina de células Th2.

ES 2 419 059 T3

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
CD14 M	Antígeno CD14	Marcador celular	Receptor de LPS usado como marcador para monocitos
CD3Z M	Antígeno CD3, polipéptido zeta	Marcador celular	Glicoproteína de superficie de linfocitos T
CD8A M	Antígeno CD8, polipéptido alfa	Marcador celular	Marcador de linfocitos T supresores
F3 M	F3	Enzima / Rédox	También conocida como tromboplastina, Factor de coagulación 3; glicoproteína de superficie celular responsable de la catálisis de la coagulación
HMOX1 M	Hemo oxigenasa (descicladora) 1	Enzima / Rédox	Inducible por endotoxinas
HSPA1A M	Proteína de choque térmico 70	Señalización y activación celular	Proteína de choque térmico 70 kDa
ICAM1 M	Molécula de adhesión intercelular 1	Adhesión celular/ Proteína de la matriz	Molécula de superficie celular endotelial; regula la adhesión y tráfico celulares, regulada por aumento durante la estimulación por citoquinas
IFI16 M	Proteína inducible por interferón gamma 16	Señalización y activación celular	Represor transcripcional
IL1B-M	Interleuquina 1, beta	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible por muchos tipos de células, secretada
IL1RN M	Antagonista del receptor de interleuquina 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL1; Antiinflamatorio; inhibe la unión de IL-1 al receptor de IL-1 por unión al receptor sin estimulación de la actividad de tipo IL-1
JUN M	Homólogo del oncogén del virus de sarcoma aviar 17 v-jun	Factor de transcripción - Unión a ADN	Proto-oncoproteína; componente del factor de transcripción AP-1 que interactúa directamente con secuencias de ADN diana para regular la expresión génica
MMP9 M	Metaloproteinasa de la matriz 9	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	También conocida como gelatinasa B; degrada moléculas de la matriz extracelular, secretada por neutrófilos estimulados por IL-8
PLA2G7 M	Fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)	Enzima / Rédox	Factor activador de plaquetas
PTPRC M	Proteína tirosina fosfatasa, receptor de tipo C	Marcador celular	También conocida como CD45; media la activación de linfocitos T
SERPINE1 M	Inhibidor de serina (o cisteína) proteasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 1	Proteinasa/ Inhibidor de proteinasa	Inhibidor del activador de plasminógeno-1 / PAI-1
TGFB1 M	Factor de crecimiento transformante, beta 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, anti-apoptótica; señalización célula-célula, puede inhibir o estimular el crecimiento celular
TIMP1 M	Inhibidor tisular de metaloproteinasa 1	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	Se une de forma irreversible e inhibe metaloproteinasas, tales como colagenasa
TLR4 M	Receptor 4 similar a Toll	Señalización y activación celular	Mediador de la señalización inducida por LPS

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
TNFSF5 M	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 5	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Ligando para CD40; expresado en la superficie de linfocitos T. Regula la función de linfocitos B enganchando CD40 sobre la superficie de linfocitos B
VEGF M	Factor de crecimiento endotelial vascular	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Producido por monocitos

Tabla 4. Panel distintivo de 8 genes de ratón para la inflamación (infusión de LPS)

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
CASP3 M	Caspasa 3	Proteinasa	Implicada en la cascada de activación de las caspasas responsables de la apoptosis, escinde CASP6, CASP7, CASP9
CD14 M	Antígeno CD14	Marcador celular	Receptor de LPS usado como marcador para monocitos
HMOX1 M	Hemo oxigenasa 1 (descicladora)	Enzima / Rédox	Inducible por endotoxinas
IFI16 M	Proteína inducible por interferón gamma 16	Señalización y activación celular	Represor transcripcional
IL1B-M	Interleuquina 1, beta	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible por muchos tipos de células, secretada
IL1RN M	Antagonista del receptor de interleuquina 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL1; Antiinflamatorio; inhibe la unión de IL-1 al receptor de IL-1 por unión al receptor sin estimulación de la actividad de tipo IL-1
TGFB1 M	Factor de crecimiento transformante, beta 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, anti-apoptótica; señalización célula-célula, puede inhibir o estimular el crecimiento celular
TLR4 M	Receptor 4 similar a Toll	Señalización y activación celular	Mediador de la señalización inducida por LPS

Tabla 5. Panel distintivo de 20 genes de ratón para la inflamación

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
CASP3 M	Caspasa 3	Proteinasa	Implicada en la cascada de activación de las caspasas responsables de la apoptosis, escinde CASP6, CASP7, CASP9
CD14 M	Antígeno CD14	Marcador celular	Receptor de LPS usado como marcador para monocitos
CD3Z M	Antígeno CD3, polipéptido zeta	Marcador celular	Glicoproteína de superficie de linfocitos T
CD8A M	Antígeno CD8, polipéptido alfa	Marcador celular	Marcador de linfocitos T supresores
F3 M	F3	Enzima / Rédox	También conocida como tromboplastina, Factor de coagulación 3; glicoproteína de superficie celular responsable de la catálisis de la coagulación
HMOX1 M	Hemo oxigenasa 1 (descicladora)	Enzima / Rédox	Inducible por endotoxinas

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
HSPA1A M	Proteína de choque térmico 70	Señalización y activación celular	Proteína de choque térmico 70 kDa
ICAM1 M	Molécula de adhesión intercelular 1	Adhesión celular/ Proteína de la matriz	Molécula de superficie celular endotelial; regula la adhesión y tráfico celulares, regulada por aumento durante la estimulación por citoquinas
IFI16 M	Proteína inducible por interferón gamma 16	Señalización y activación celular	Represor transcripcional
IL1B-M	Interleuquina 1, beta	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible por muchos tipos de células, secretada
IL1RN M	Antagonista del receptor de interleuquina 1	citoquinas- quimiocinas- factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL1; Antiinflamatorio; inhibe la unión de IL-1 al receptor de IL-1 por unión al receptor sin estimulación de la actividad de tipo IL-1
MMP9 M	Metaloproteinasa de la matriz 9	Proteinasa / Inhibidor de proteínasa	También conocida como gelatinasa B; degrada moléculas de la matriz extracelular, secretada por neutrófilos estimulados por IL-8
PLA2G7 M	Fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)	Enzima / Rédox	Factor activador de plaquetas
PTPRC M	Proteína tirosina fosfatasa, receptor de tipo C	Marcador celular	También conocida como CD45; media la activación de linfocitos T
SERPINE1 M	Inhibidor de serina (o cisteína) proteasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 1	Proteinasa/ Inhibidor de proteinasa	Inhibidor del activador de plasminógeno-1 / PAI-1
TGFB1 M	Factor de crecimiento transformante, beta 1	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Actividad pro y antiinflamatoria, anti-apoptótica; señalización célula-célula, puede inhibir o estimular el crecimiento celular
TIMP1 M	Inhibidor tisular de metaloproteínasa 1	Proteinasa / Inhibidor de proteínasa	Se une de forma irreversible e inhibe metaloproteinasas, tales como colagenasa
TLR4 M	Receptor 4 similar a Toll	Señalización y activación celular	Mediador de la señalización inducida por LPS
TNFSF5 M	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 5	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Ligando para CD40; expresado en la superficie de linfocitos T. Regula la función de linfocitos B enganchoando CD40 sobre la superficie de linfocitos B
VEGF M	Factor de crecimiento endotelial vascular	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Producido por monocitos

Tabla 6. Panel distintivo de 8 genes de ratón para la inflamación (LPS + dexametasona)

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
CD14 M	Antígeno CD14	Marcador celular	Receptor de LPS usado como marcador para monocitos
HSPA1A M	Proteína de choque térmico 70	Señalización y activación celular	Proteína de choque térmico 70 kDa
ICAM1 M	Molécula de adhesión intercelular 1	Adhesión celular/ Proteína de la matriz	Molécula de superficie celular endotelial; regula la adhesión y tráfico celulares, regulada por aumento durante la estimulación por citoquinas
IFI16 M	Proteína inducible por interferón gamma 16	Señalización y activación celular	Represor transcripcional
IL1B-M	Interleuquina 1, beta	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Proinflamatoria; expresada de forma constitutiva e inducible por muchos tipos de células, secretada
IL1RN M	Antagonista del receptor de interleuquina 1	citoquinas- quimiocinas- factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL1; Antiinflamatorio; inhibe la unión de IL-1 al receptor de IL-1 por unión al receptor sin estimulación de la actividad de tipo IL-1
MMP9 M	Metaloproteinasa de la matriz 9	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	También conocida como gelatinasa B; degrada moléculas de la matriz extracelular, secretada por neutrófilos estimulados por IL-8
PLA2G7 M	Fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)	Enzima / Rédox	Factor activador de plaquetas

Tabla 7. Panel distintivo de 9 genes de ratón para la inflamación (Respuesta en sangre entera estimulada por LPS)

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
CD3Z M	Antígeno CD3, polipéptido zeta	Marcador celular	Glicoproteína de superficie de linfocitos T
CD8A M	Antígeno CD8, polipéptido alfa	Marcador celular	Marcador de linfocitos T supresores
HMOX1 M	Hemo oxigenasa 1 (descicladora)	Enzima / Rédox	Inducible por endotoxinas
HSPA1A M	Proteína de choque térmico 70	Señalización y activación celular	Proteína de choque térmico 70 kDa
TCAM1 M	Molécula de adhesión intercelular 1	Adhesión celular/ Proteína de la matriz	Molécula de superficie celular endotelial; regula la adhesión y tráfico celular, regulada por aumento durante la estimulación por citoquinas
IL1RN M	Antagonista del receptor de interleuquina 1	citoquinas- quimiocinas- factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL1; Antiinflamatorio; inhibe la unión de IL-1 al receptor de IL-1 por unión al receptor sin estimulación de la actividad de tipo IL-1
PLA2G7 M	Fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)	Enzima / Rédox	Factor activador de plaquetas
SERPINE1 M	Inhibidor de serina (o cisteína) proteasa, clado B (ovoalbúmina), miembro 1	Proteinasa/ Inhibidor de proteinasa	Inhibidor del activador de plasminógeno-1 / PAI-1

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
TNFSF5 M	Superfamilia de factores de necrosis tumoral (ligando), miembro 5	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Ligando para CD40; expresado en la superficie de linfocitos T. Regula la función de linfocitos B enganchando CD40 sobre la superficie de linfocitos B

Tabla 8. Panel distintivo de 8 genes de ratón para la inflamación (Respuesta en sangre entera estimulada por LPS)

Símbolo	Nombre	Clasificación	Descripción
CD3Z M	Antígeno CD3, polipéptido zeta	Marcador celular	Glicoproteína de superficie de linfocitos T
CD8A M	Antígeno CD8, polipéptido alfa	Marcador celular	Marcador de linfocitos T supresores
HMOX1 M	Hemo oxigenasa 1 (descicladora)	Enzima / Rédox	Inducible por endotoxinas
F3 M	F3	Enzima / Rédox	También conocida como tromboplastina, Factor de coagulación 3; glicoproteína de superficie celular responsable de la catálisis de la coagulación
ICAM1 M	Molécula de adhesión intercelular 1	Adhesión celular/ Proteína de la matriz	Molécula de superficie celular endotelial; regula la adhesión y tráfico celular, regulada por aumento durante la estimulación por citoquinas
IL1RN M	Antagonista del receptor de interleuquina 1	citoquinas- quimiocinas- factores de crecimiento	Antagonista del receptor de IL-1; Antiinflamatorio; inhibe la unión de IL-1 al receptor de IL-1 por unión al receptor sin estimulación de la actividad de tipo IL-1
TIMP1 M	Inhibidor tisular de metaloproteinasa 1	Proteinasa / Inhibidor de proteinasa	Se une de forma irreversible e inhibe metaloproteinasas, tales como colagenasa
TNFSF5 M	Superfamilia de factor de necrosis tumoral (ligando), miembro 5	citoquinas - quimiocinas - factores de crecimiento	Ligando para CD40; expresado en la superficie de linfocitos T. Regula la función de linfocitos B enganchando CD40 sobre la superficie de linfocitos B

Tabla 9. Precision Profile™ de 40 genes murinos para la artritis reumatoide

Símbolo del gen	Nombre del gen	Número de acceso del gen
Abca1	casete de unión a ATP, subfamilia A (ABC1), miembro 1	NM_013454
Apaf1	factor activador de peptidasa apoptótica 1	NM_009684
Arg2	arginasa tipo II	NM_009705
Casp1	caspa 1	NM_009807
Casp3	caspa 3	NM_009810
Ccr3	receptor de quimiocina 3 (motivo C-C)	NM_009914
Cd14	Antígeno CD14	NM_009841
Cd19	Antígeno CD19	NM_009844
Cd3z	Antígeno CD247	NM_031162
Cd86	Antígeno CD86	NM_019388
Cd8a	Antígeno CD8, cadena alfa	XM_132621
Cspq2	versicán	XM_898918
F3	factor de coagulación III	NM_010171

ES 2 419 059 T3

Hmox1	hemo oxigenasa (descicladora) 1	NM_010442
Hspa1a	proteína de choque térmico 1A	NM_010479
Icam1	molécula de adhesión intercelular	NM_010493
Ifi16	gen activado por interferón 204	NM_008329
Il10	interleuquina 10	NM_010548
Il1a	interleuquina 1 alfa	NM_010554
Il1b	Interleuquina 1, beta	NM_008361
Il1r2	receptor de interleuquina 1, tipo II	NM_010555
IL1rap	proteína auxiliar del receptor de interleuquina 1	NM_008364
Il1rn	antagonista del receptor de interleuquina 1	NM_031167
Il6	interleuquina 6	NM_031168
Jun	oncogén Jun	NM_010591
Mef2c	factor potenciador de miocitos 2C	NM_025282
Mmp9	metalopectidasa de la matriz 9	NM_013599
Nfkb1	factor nuclear 1 del potenciador del gen de la cadena ligera kappa en linfocitos B, P105	NM_008689
Padi4	peptidil arginina desiminasa, tipo IV	NM_011061
Pla2g7	fosfolipasa A2, grupo VII (factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, plasma)	NM_013737
Ptpnc	proteína tirosina fosfatasa, receptor tipo C	NM_011210
Ptx3	gen relacionado con pentraxina	NM_008987
Serpinel	inhibidor de serina (o cisteína) peptidasa, clado E, miembro 1	NM_008871
Tpfb1	factor de crecimiento transformante, beta 1	NM_011577
Timp1	inhibidor tisular de metaloproteinasas 1	NM_011593
Tlr2	receptor similar a toll 2	NM_011905
Tlr4	receptor similar a toll 4	NM_021297
Tnfsf5	ligando CD40	NM_011616
Tnf	factor de necrosis tumoral	NM_013693
Vegf	factor de crecimiento endotelial vascular A	NM_009505

Tabla 13: Valores de expresión relativa (2^{delta delta Ct}) para animales tratados con LPS + dexametasona (Grupos 4-6) a las 1,5, 4 y 24 h

Nombre de la muestra	(Protocolo SPM-1 (LU03))																								
	APAFI M	AROS M	CASPS M	CCREIM	CD4 M	CD24 M	CD21 M	CD14 M	CD11 M	CD3 M	HMOXI M	ISPATA M	ICANR M	IRIL M	IL1B M	IL1RN M	JULF M	MMP9 M	PAZSGT M	P1PRC M	PERP1R M	TGFBI M	TIMP1 M	TL6A M	TNFSF3 M
121-Spm-Ant-2005-0097	0.56	0.71	0.53	1.32	0.87	0.86	1.13	0.13	0.70	0.74	0.36	0.63	0.42	1.49	1.62	1.62	0.87	0.56	0.47	0.56	0.47	0.35	0.77	0.68	0.50
121-Spm-Ant-2005-0105	0.76	0.90	0.50	1.29	0.87	0.32	0.95	2.51	0.87	0.76	0.36	0.73	0.45	2.27	1.13	0.73	0.61	0.63	0.33	0.33	0.33	3.11	0.41	0.88	0.85
121-Spm-Ant-2005-0115	0.60	1.00	0.99	1.22	0.63	0.35	3.57	30.26	0.87	0.36	0.77	0.76	1.76	1.11	0.51	0.63	0.60	0.87	0.60	0.87	0.45	0.45	0.45	0.45	0.70
121-Spm-Ant-2005-0120	0.18	1.21	0.37	1.71	1.22	1.33	4.35	11.33	0.80	1.40	0.19	0.85	0.77	1.23	1.41	1.57	2.14	0.57	2.14	0.57	0.78	1.02	0.61	0.55	0.55
121-Spm-Ant-2005-0125	0.48	0.34	0.18	0.50	0.50	0.30	0.65	0.17	0.45	0.73	0.40	0.45	0.27	0.57	1.29	0.96	1.85	0.95	0.95	0.76	0.70	0.40	0.40	0.67	1.32
121-Spm-Ant-2005-0125	0.45	0.34	0.13	0.53	0.28	0.35	0.52	0.13	0.43	0.61	0.38	0.33	0.15	0.44	0.90	0.51	0.95	0.76	0.76	0.76	0.40	0.40	0.40	0.67	0.63
121-Spm-Ant-2005-0125	0.45	0.43	0.10	0.50	0.28	0.35	0.52	0.13	0.43	0.61	0.38	0.33	0.15	0.44	0.90	0.51	0.95	0.76	0.76	0.76	0.40	0.40	0.40	0.67	0.63
121-Spm-Ant-2005-0129	0.67	0.97	1.10	1.04	0.67	0.77	0.73	0.40	0.78	0.74	0.84	1.05	0.49	1.61	0.65	0.65	0.21	0.67	0.11	0.67	0.11	0.10	0.10	0.54	0.53
121-Spm-Ant-2005-0136	0.45	0.05	1.15	1.05	0.77	0.43	0.32	0.71	2.04	0.16	1.31	1.26	0.43	1.93	0.80	0.73	0.17	0.17	0.03	0.17	0.17	3.10	0.31	0.79	0.19
121-Spm-Ant-2005-0145	0.83	0.19	0.91	0.84	0.47	0.48	0.67	0.65	0.72	0.14	0.11	0.21	0.15	0.53	0.44	0.53	0.14	0.44	0.53	0.14	0.14	3.10	0.31	0.79	0.19
121-Spm-Ant-2005-0146	0.45	0.61	0.72	0.59	0.21	0.87	0.62	0.52	0.55	2.72	0.54	0.74	0.49	1.14	1.06	0.63	0.46	0.50	0.74	0.63	0.46	0.74	0.63	0.46	0.50
121-Spm-Ant-2005-0159	0.16	0.19	0.13	0.31	0.39	0.63	0.30	0.31	0.30	1.50	0.99	0.16	0.79	0.43	0.52	0.19	0.65	0.09	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
121-Spm-Ant-2005-0164	0.84	1.15	0.51	1.33	1.34	0.31	0.45	0.59	0.40	0.37	2.31	1.01	0.72	0.95	1.68	0.97	0.56	0.79	0.75	0.85	1.30	2.47	0.19	0.51	0.51
121-Spm-Ant-2005-0166	0.68	0.75	0.57	1.08	0.93	0.57	0.84	1.74	0.81	0.76	0.41	0.62	0.71	1.15	0.71	0.52	0.47	0.60	0.60	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82	0.82
121-Spm-Ant-2005-0167	1.09	1.78	0.58	1.35	1.09	1.03	0.52	0.59	0.10	0.65	0.94	0.26	0.61	0.60	1.24	0.68	0.69	0.18	0.54	0.64	2.01	1.27	0.51	0.51	0.51
121-Spm-Ant-2005-0167	1.09	1.78	0.58	1.35	1.09	1.03	0.52	0.59	0.10	0.65	0.94	0.26	0.61	0.60	1.24	0.68	0.69	0.18	0.54	0.64	2.01	1.27	0.51	0.51	0.51
121-Spm-Ant-2005-0167	1.03	0.92	0.72	0.83	1.37	0.80	1.40	0.57	0.64	2.50	0.94	1.32	0.78	2.41	1.25	0.89	0.89	0.89	1.10	0.52	3.50	2.19	0.59	0.59	0.59
121-Spm-Ant-2005-0168	0.83	0.99	0.71	0.86	0.57	0.96	1.08	1.09	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	1.95	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94
121-Spm-Ant-2005-0168	0.83	0.99	0.71	0.86	0.57	0.96	1.08	1.09	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	1.95	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94	0.94
121-Spm-Ant-2005-0174	0.54	1.10	0.60	1.29	0.70	0.70	0.70	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67
121-Spm-Ant-2005-0174	1.66	1.40	1.15	0.76	1.14	0.43	0.41	0.64	1.92	1.10	1.73	0.37	0.87	1.18	1.13	2.21	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18	1.18
121-Spm-Ant-2005-0184	1.00	0.77	0.85	0.74	0.80	0.55	1.01	0.54	0.76	0.55	0.94	0.38	0.72	0.69	0.74	1.11	0.63	0.30	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79
121-Spm-Ant-2005-0111	2.18	1.57	1.75	0.35	1.81	1.06	1.16	0.61	3.08	0.82	1.44	3.13	3.13	2.50	2.90	3.34	1.45	1.71	2.17	2.47	2.47	2.47	2.47	2.47	2.47
121-Spm-Ant-2005-0120	2.18	1.57	1.75	0.35	1.81	1.06	1.16	0.61	3.08	0.82	1.44	3.13	3.13	2.50	2.90	3.34	1.45	1.71	2.17	2.47	2.47	2.47	2.47	2.47	2.47
121-Spm-Ant-2005-0150	1.84	1.74	1.01	0.45	2.07	0.97	0.64	2.07	0.65	1.71	1.76	1.56	1.79	1.82	1.94	1.86	1.45	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82	1.82
121-Spm-Ant-2005-0155	1.51	1.38	1.04	2.15	2.08	1.45	3.07	0.55	1.50	0.84	1.92	0.79	2.38	1.90	1.82	0.94	1.93	0.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90
121-Spm-Ant-2005-0155	2.12	2.40	1.59	0.95	2.02	0.83	1.05	0.67	2.15	2.05	2.41	1.97	1.99	2.38	2.42	1.52	2.38	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28
121-Spm-Ant-2005-0152	3.75	3.18	2.38	1.80	4.91	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42	3.43	4.42
121-Spm-Ant-2005-0113	4.09	1.35	2.64	0.74	2.40	0.84	3.55	4.31	3.54	27.79	1.31	1.60	0.93	1.20	0.74	0.95	4.50	4.50	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34

Tabla 14: Valores de expresión relativa (2^a de la tabla C1) para animales tratados con LPS (Grupos 1-3) a las 1,5, 4 y 24 h

(Protocolo SPN-1/LDPS)

Nombre de la muestra	APAF1.M	ARG2.M	CASP3.M	CCR3.M	CD11c.M	CD14.M	CD18.M	CD24.M	CD44.M	F3.M	HMOX1.M	HSPA1A.M	ICAM1.M	IRF1.M	IL1B.M	IL6.M	IL8.M	IL1RN.M	JUN.M	KU81B.M	PLA2G7.M	PI3KC.M	PERP.M	TGFB1.M	TIMP1.M	TIR2.M	TNFSF6.M	VEGF.M
Grupo 1 LPS-1.5 h	0.30	0.24	0.29	0.09	16.34	0.18	0.07	0.83	0.46	0.46	0.46	2.75	3.10	1.25	1.33	3.76	2.21	0.70	0.22	0.77	0.17	17.36	0.36	0.57	0.30	0.04	0.89	
Grupo 2 LPS-4 h	0.72	1.43	0.82	0.15	8.30	0.13	0.07	1.59	0.73	0.53	0.66	1.76	1.48	1.25	1.88	2.43	2.79	0.37	0.51	0.18	0.18	7.56	0.51	1.79	1.23	0.02	0.74	
Grupo 3 LPS-24 h	0.49	0.75	0.47	0.09	16.64	0.22	0.07	0.73	0.46	0.29	0.29	1.60	0.29	1.25	2.28	2.52	1.87	0.91	0.51	0.15	0.15	16.9	0.50	0.91	0.77	0.22	0.74	

Tabla 15: Valores de expresión relativa (2^a de la tabla C1) para animales tratados con LPS + dexametasona (Grupos 4-6) a las 1,5, 4 y 24 h

(Protocolo SPN-1/LDPS)

Nombre de la muestra	APAF1.M	ARG2.M	CASP3.M	CCR3.M	CD11c.M	CD14.M	CD18.M	CD24.M	CD44.M	F3.M	HMOX1.M	HSPA1A.M	ICAM1.M	IRF1.M	IL1B.M	IL6.M	IL8.M	IL1RN.M	JUN.M	KU81B.M	PLA2G7.M	PI3KC.M	PERP.M	TGFB1.M	TIMP1.M	TIR2.M	TNFSF6.M	VEGF.M
Grupo 4 LPS-Dex 1.5 h	0.56	0.72	0.37	0.07	16.76	0.16	0.05	0.47	0.59	0.45	0.35	0.15	0.35	0.35	0.72	0.17	0.37	1.13	0.37	0.13	0.01	0.53	0.45	0.19	0.43	0.55	0.72	
Grupo 5 LPS-Dex 4 h	0.65	0.83	0.52	0.57	1.10	0.12	0.10	0.61	0.61	0.32	0.31	0.68	0.32	2.12	0.44	0.60	0.36	1.33	0.39	0.62	0.45	0.26	0.24	0.26	0.52	0.32	0.55	0.62
Grupo 6 LPS-Dex 24 h	1.06	1.58	0.89	0.19	1.77	0.15	0.12	0.87	2.12	1.37	1.84	2.51	1.43	1.73	2.21	1.18	2.32	1.46	1.24	1.12	1.46	1.24	1.12	0.68	1.58	0.68	1.15	

Tabla 16: Valores de expresión relativa (2^{delta delta CT}) para sujetos humanos o murinos tratados con LPS in vivo a las 2 ó 1,5 h, 5 ó 4 h y 21 ó 24 h, respectivamente

Nombre de la muestra	CD14	CD32	CD8A	F3	HMOX1	ISPA1A	ICAM1	IL1B	IL1RN	MMF9	PLA2G7	PTPRC	SERPINE1	TGFB1	TIMP1	TNFSF5	VEGF
0h 011, In Vivo LPS, 2 h	0.97	0.33	0.46	0.11	4.34	11.33	48.76	34.72	97.17	0.08	1.32	2.04	1.46	0.99	0.99	0.99	1.55
0h 014, In Vivo LPS, 2 h	2.19	0.09	0.12	0.11	5.02	13.32	43.04	79.62	102.89	0.05	1.16	0.54	1.75	1.35	1.35	0.12	2.37
0h 017, In Vivo LPS, 2 h	0.78	0.27	0.51	1.09	0.08	4.11	13.05	59.61	70.64	64.00	0.06	0.63	1.91	1.23	0.73	0.73	1.73
23Gmp1 Ant1, Post LPS, 1.5 h	11.22	0.23	0.27	3.95	0.32	0.60	0.50	1.73	0.09	0.30	0.22	38.91	0.38	4.67	0.04	0.04	0.61
23Gmp1 Ant2, Post LPS, 1.5 h	12.19	0.19	0.15	3.10	0.27	2.12	2.13	1.67	4.16	0.36	0.43	0.17	7.26	0.29	2.89	0.42	1.08
23Gmp1 Ant3, Post LPS, 1.5 h	18.05	0.15	0.37	4.74	0.33	3.48	2.94	8.36	0.45	0.17	0.17	3.58	0.40	0.06	0.06	0.06	0.18
23Gmp1 Ant4, Post LPS, 1.5 h	30.04	0.13	0.19	15.10	1.52	4.97	4.31	1.71	6.41	0.20	0.50	0.12	75.92	0.38	6.05	0.02	0.49
23Gmp1 Ant5, Post LPS, 1.5 h	7.23	0.13	0.17	1.84	0.30	9.82	1.94	0.85	2.88	0.20	0.07	0.12	0.41	0.45	0.03	0.03	0.55
23Gmp1 Ant6, Post LPS, 1.5 h	5.07	0.16	0.24	3.24	0.15	0.52	1.74	0.22	1.70	0.08	0.10	0.15	9.54	0.31	0.05	0.05	0.55
23Gmp1 Ant7, Post LPS, 1.5 h	14.33	0.23	0.34	21.40	0.71	1.28	3.46	1.28	2.82	0.11	0.20	0.15	59.23	0.25	31.97	0.06	1.48
23Gmp1 Ant8, Post LPS, 1.5 h	42.84	0.16	0.24	22.30	1.38	6.03	5.89	2.83	9.21	0.39	0.46	0.21	188.39	0.49	73.92	0.05	0.60
23Gmp1 Ant9, Post LPS, 1.5 h	27.95	0.40	0.76	11.01	0.63	6.78	6.08	1.78	3.39	0.22	0.56	0.26	58.48	0.34	57.82	0.06	2.01
0h 011, In Vivo LPS, 5 h	5.96	0.10	0.18	0.92	0.92	15.78	12.58		151.01	198.31	5.28	9.18	1.12	3.36	2.88	0.21	2.67
0h 014, In Vivo LPS, 5 h	10.85	0.08	0.06	1.04	0.95	7.78	10.39	67.30	57.28	1.93	6.88	0.58	1.88	2.57	0.09	1.78	1.78
24 017, In Vivo LPS, 5 h	6.58	0.08	0.17	1.16	0.21	10.13	8.52	22.35	101.30	64.45	0.77	4.02	2.20	1.72	2.50	0.06	2.55
23Gmp2 Ant1, Post LPS, 4 h	3.74	0.11	0.03	0.39	0.12	0.31	0.52	4.68	0.20	0.28	0.10	3.95	0.53	0.01	0.01	1.00	1.00
23Gmp2 Ant2, Post LPS, 4 h	5.59	0.09	0.03	2.18	0.45	0.26	0.52	1.06	11.16	0.30	0.63	0.14	0.70	0.35	4.50	0.02	0.69
23Gmp2 Ant3, Post LPS, 4 h	0.42	0.09	0.07	0.27	0.05	0.47	1.18	9.20	0.18	0.27	0.13	2.51	0.33	0.01	0.01	0.49	0.49
23Gmp2 Ant4, Post LPS, 4 h	9.34	0.14	0.12	4.10	0.51	0.67	0.48	2.08	14.73	0.32	0.53	0.16	1.18	0.56	0.01	0.01	0.84
23Gmp2 Ant5, Post LPS, 4 h	22.13	0.14	0.08	3.01	1.94	1.56	1.13	2.77	20.86	0.45	1.48	0.76	114.09	0.65	17.10	0.01	1.14
23Gmp2 Ant6, Post LPS, 4 h	11.06	0.13	0.05	1.21	0.69	0.59	1.43	15.79	0.58	0.70	0.22	1.57	0.55	0.02	0.02	0.46	0.46
23Gmp2 Ant7, Post LPS, 4 h	28.25	0.17	0.07	2.14	0.97	0.84	2.55	34.70	0.97	1.32	0.28	4.25	0.81	2.17	0.05	0.05	0.98
23Gmp2 Ant8, Post LPS, 4 h	7.71	0.3	0.09	0.95	0.57	1.19	2.87	20.71	0.52	0.86	0.23	2.82	0.30	0.02	0.02	0.57	0.57
23Gmp2 Ant9, Post LPS, 4 h	5.41	0.22	0.09	2.06	0.38	0.66	0.81	1.72	11.25	0.18	0.55	0.22	0.85	0.35	0.01	0.01	0.60
23Gmp2 Ant10, Post LPS, 4 h	11.55	0.2	0.10	3.27	0.91	0.61	0.77	2.71	19.41	0.53	1.12	0.18	3.98	0.58	2.48	0.01	0.86
0h 011, In Vivo LPS, 24 h	5.46	0.54	0.07	2.76	3.12	5.35	3.25	5.06	20.69	0.95	5.09	1.61	1.95	5.47	2.47	1.02	1.02
0h 014, In Vivo LPS, 24 h	1.74	0.65	0.60	2.37	1.78	1.98	2.26	4.59	1.47	0.24	1.62	0.90	1.90	2.00	0.56	0.56	0.56
0h 017, In Vivo LPS, 24 h	2.19	0.42	0.80	1.62	2.00	2.87	5.35	3.54	7.14	0.21	2.50	1.51	1.38	3.74	0.98	0.98	0.98
23Gmp3 Ant1, Post LPS, 24 h	11.13	0.23	0.16	1.42	2.26	1.07	3.91	4.70	2.30	1.21	0.38	2.55	0.44	4.86	0.30	0.30	0.81
23Gmp3 Ant2, Post LPS, 24 h	14.76	0.29	0.39	2.19	1.16	0.66	2.27	6.09	2.39	1.37	0.48	0.86	0.45	2.91	0.37	0.37	5.63
23Gmp3 Ant3, Post LPS, 24 h	6.28	0.17	0.17	1.55	0.47	0.62	2.27	4.19	2.40	0.84	0.74	0.95	0.35	0.21	0.21	0.43	0.43
23Gmp3 Ant4, Post LPS, 24 h	3.03	0.17	0.18	1.15	0.40	0.41	1.93	2.34	2.10	0.95	0.24	0.72	0.39	0.24	0.24	0.43	0.43
23Gmp3 Ant5, Post LPS, 24 h	9.86	0.52	0.85	2.94	2.79	1.06	0.97	3.25	5.59	3.57	1.99	0.97	2.93	0.38	16.02	0.32	0.84
23Gmp3 Ant6, Post LPS, 24 h	15.51	0.23	0.13	1.86	0.54	1.28	2.65	7.51	5.78	2.46	0.49	0.68	0.39	0.23	0.23	0.78	0.78
23Gmp3 Ant7, Post LPS, 24 h	17.10	0.11	0.14	3.40	0.74	1.25	3.09	12.99	3.83	3.22	0.41	1.25	0.43	7.72	0.14	0.84	0.84
23Gmp3 Ant8, Post LPS, 24 h	24.02	0.24	0.42	2.46	4.92	2.25	1.97	6.19	7.27	3.87	2.36	0.58	3.54	0.44	5.98	0.16	14.01
23Gmp3 Ant9, Post LPS, 24 h	20.32	0.28	1.05	3.33	6.06	5.33	1.12	3.55	6.27	2.05	1.56	0.36	14.92	0.57	0.11	0.20	0.66
23Gmp3 Ant10, Post LPS, 24 h	28.70	0.12	0.10	2.33	0.82	1.33	3.73	6.43	3.51	2.14	0.48	0.97	0.22	1.85	0.15	0.64	0.64

XXX Valor nulo indica que tanto la muestra tratada como la de calibración tienen al menos 1 repetición FAM "no determinada" (CT>40) automáticamente
 Valor rojo indica que al menos 1 repetición FAM era "no determinada" (CT>40) y automáticamente

Tabla 17: Valores de expresión relativa (2-delta delta CT) para sangre entera tratada con LPS a las 2 h, 5 ó 6 h y 21 ó 24 h, in vivo e in vitro, respectivamente

Nombre de la muestra	BT	CTO4	CD14	CD19	CD22	CD4	CD8A	CSF3	CXCL1	CXCL2	F3	HMOX1	HSPA1A	ICAM1	IFNG	IL10	IL15	IL18	IL8BP
Vino LPS, 10mg/L, 2h	0.56	0.59	0.69	0.90	0.74	0.58	0.71	11.35	136.74	67.38	74.11	0.10	0.84	35.44	1.45	4.08	1.77	11.63	1.39
0101, in Vivo LPS, 2h	0.39	0.08	0.97	1.01	0.33	0.25	0.46	34.36	11.67	34.36	0.11	0.11	4.34	11.33	0.78	0.78	0.34	1.49	0.29
0104, in Vivo LPS, 2h	0.36	0.20	2.19	0.53	0.09	0.10	0.12	0.55	20.89	5.52	3.27	0.11	5.02	13.32	0.74	0.33	0.33	4.16	0.30
0107, in Vivo LPS, 2h	0.66	0.74	0.78	0.41	0.27	0.12	0.51	2.71	99.40	4.93	1.09	0.08	4.11	13.09	0.33	0.23	0.23	2.04	0.45
Nombre de la muestra	BT	CTO4	CD14	CD19	CD22	CD4	CD8A	CSF3	CXCL1	CXCL2	F3	HMOX1	HSPA1A	ICAM1	IFNG	IL10	IL15	IL18	IL8BP
Vino LPS, 10mg/L, 6h	1.17	0.42	0.38	0.78	0.35	0.24	0.62	90.20	406.61	270.74	6.38	0.38	0.91	10.43	111.62	15.16	2.94	1.29	0.63
0101, in Vivo LPS, 6h	0.25	0.05	5.95	0.23	0.10	0.15	0.13	4.16	1.17	0.92	0.92	0.92	15.78	12.53	0.85	0.85	0.95	1.66	0.30
0104, in Vivo LPS, 6h	0.86	1.16	10.89	0.50	0.08	0.17	0.05	1.17	3.61	0.76	0.76	1.04	9.25	7.78	0.35	0.05	0.30	2.14	0.46
0107, in Vivo LPS, 6h	0.32	0.25	6.59	0.25	0.08	0.07	0.17	7.35	1.16	1.16	1.16	0.21	10.13	8.92	2.37	0.35	0.35	0.98	0.38
Nombre de la muestra	BT	CTO4	CD14	CD19	CD22	CD4	CD8A	CSF3	CXCL1	CXCL2	F3	HMOX1	HSPA1A	ICAM1	IFNG	IL10	IL15	IL18	IL8BP
Vino LPS, 10mg/L, 24h	1.31	2.70	0.47	0.80	0.62	0.35	0.73	4.35	54.10	18.19	3.63	3.39	0.57	6.50	31.98	8.04	2.68	0.66	10.18
0101, in Vivo LPS, 24h	1.13	1.85	3.46	1.13	0.54	1.52	0.97	3.88	1.45	2.76	3.12	2.76	3.12	5.35	0.55	5.78	1.16	1.82	0.66
0104, in Vivo LPS, 24h	0.64	1.83	1.74	1.10	0.65	0.97	0.50	0.60	0.71	2.37	1.78	2.37	1.78	1.98	1.21	0.46	1.51	1.47	0.79
0107, in Vivo LPS, 24h	0.74	4.77	2.19	0.41	0.42	0.77	0.68	0.90	2.52	0.89	1.62	1.62	2.80	2.87	0.55	1.35	1.35	1.88	0.79
Nombre de la muestra	BT	CTO4	CD14	CD19	CD22	CD4	CD8A	CSF3	CXCL1	CXCL2	F3	HMOX1	HSPA1A	ICAM1	IFNG	IL10	IL15	IL18	IL8BP
Vino LPS, 10mg/L, 2h	999.52	162.09	213.42	1.39	2105.58	2.91	2.01	32.33	54.47	1.02	1.02	1.27	2.69	80.17	0.89	0.41	0.24	0.70	2.38
0101, in Vivo LPS, 2h	72.76	48.76	34.72	0.47	46.34	97.17	0.08	15.30	41.79	1.32	2.04	1.46	0.99	13.48	0.83	0.93	0.58	0.05	1.55
0104, in Vivo LPS, 2h	64.22	43.04	73.82	0.57	93.11	102.89	0.05	12.20	16.91	1.15	0.54	1.75	1.35	17.15	0.51	0.99	0.12	0.03	2.87
0107, in Vivo LPS, 2h	42.84	59.61	70.64	2.27	291.38	84.00	0.05	20.49	43.64	0.63	1.91	1.23	0.71	7.27	0.92	0.96	0.15	1.73	0.73
Nombre de la muestra	BT	CTO4	CD14	CD19	CD22	CD4	CD8A	CSF3	CXCL1	CXCL2	F3	HMOX1	HSPA1A	ICAM1	IFNG	IL10	IL15	IL18	IL8BP
Vino LPS, 10mg/L, 6h	2191.19	1004.65	48.59	2.11	3184.18	0.89	8.54	3.78	23.82	0.87	2.07	0.66	8.03	16.14	0.98	2.70	0.14	6.30	5.65
0101, in Vivo LPS, 6h	16.91	153.01	6.84	0.84	2.42	188.31	5.28	3.76	3.85	9.18	1.12	3.36	2.38	2.96	0.34	14.37	0.21	0.08	2.67
0104, in Vivo LPS, 6h	3.58	10.39	67.30	3.04	11.85	97.28	1.93	3.29	1.85	6.88	0.59	1.88	2.57	2.18	2.38	11.96	0.09	0.07	1.78
0107, in Vivo LPS, 6h	4.07	22.35	101.30	1.07	49.87	84.45	0.77	6.23	3.76	4.02	2.29	1.72	2.58	1.58	0.25	13.59	0.14	2.55	0.55
Nombre de la muestra	BT	CTO4	CD14	CD19	CD22	CD4	CD8A	CSF3	CXCL1	CXCL2	F3	HMOX1	HSPA1A	ICAM1	IFNG	IL10	IL15	IL18	IL8BP
Vino LPS, 10mg/L, 24h	117.95	30.05	40.22	1.39	576.03	0.89	1.52	5.74	6.81	0.94	3.97	0.74	11.00	2.08	2.42	3.25	0.16	1.52	51.98
0101, in Vivo LPS, 24h	5.95	1.77	2.75	28.89	0.85	5.72	4.03	5.69	1.61	1.55	5.47	1.05	5.03	3.97	1.05	5.03	2.47	0.50	1.08
0104, in Vivo LPS, 24h	2.26	4.59	0.57	0.19	1.47	0.24	1.37	1.24	1.62	0.80	1.90	2.00	1.59	0.79	2.12	0.89	0.74	0.24	0.24
0107, in Vivo LPS, 24h	6.35	3.54	0.39	7.14	0.21	2.90	2.72	2.50	2.72	2.50	1.51	1.38	3.74	2.43	0.71	4.74	0.45	0.45	0.50

XXX valor nulo indica que tanto la muestra tratada como la de calibración tienen al menos 1 repetición FAM "no determinada" (CT>40) automáticamente ajustado a 40
 XXXX valor rojo indica que al menos 1 repetición FAM era "no determinada" (CT>40) y se ajustaba automáticamente a 40

Tabla 18: Valores de expresión relativa ($2^{-\Delta\text{delta de la Ct}}$) para sujetos humanos o murinos tratados con LPS in vitro e in vivo a las 2 ó 1,5 h, 6 ó 4 h y 24 h, respectivamente

Nombre de la muestra	CD14	CD32	CD8A	F3	HMOX1	HSPA1A	ICAM1	IL1B	IL1RN	MMP9	PLA2G7	PTPRC	SERPINE1	TGFB1	TIMP1	TNFSF5	VEGF
In Vitro LPS, Ing/ml, 2h	0,68	0,74	0,71	74,11	0,10	0,84	35,44	1632,08	273,42	2,01	2,01	1,02	1,27	1,27	2,69	0,24	2,38
123:Gp1 An1, Post LPS, 1,5 h	11,22	0,23	0,27	3,59	0,82	0,90	2,41	0,65	1,73	0,09	0,30	0,22	38,91	0,38	4,67	0,04	0,61
123:Gp1 An2, Post LPS, 1,5 h	12,16	0,13	0,15	3,10	0,27	2,12	2,13	1,67	4,16	0,36	0,13	0,17	7,26	0,29	2,99	0,02	1,08
123:Gp1 An3, Post LPS, 1,5 h	18,06	0,15	0,37	4,74	0,33	3,49	2,84	2,94	6,36	0,45	0,17	0,17	3,58	0,40	2,99	0,06	0,18
123:Gp1 An4, Post LPS, 1,5 h	30,04	0,13	0,19	15,10	1,52	4,97	4,35	1,71	6,41	0,20	0,50	0,12	75,92	0,38	8,65	0,02	0,49
123:Gp1 An5, Post LPS, 1,5 h	7,23	0,13	0,17	1,84	0,30	9,82	1,94	0,85	2,98	0,20	0,07	0,12	0,41	0,45	2,99	0,03	0,55
123:Gp1 An6, Post LPS, 1,5 h	9,07	0,18	0,24	3,24	0,15	0,54	1,73	0,62	1,70	0,09	0,13	0,15	9,54	0,31	2,99	0,05	0,56
123:Gp1 An7, Post LPS, 1,5 h	14,33	0,23	0,34	21,40	0,71	1,28	3,46	1,23	2,82	0,11	0,20	0,15	59,23	0,25	31,97	0,08	1,48
123:Gp1 An8, Post LPS, 1,5 h	42,64	0,16	0,24	22,30	1,38	6,03	5,89	2,63	9,21	0,39	0,46	0,21	138,39	0,49	23,92	0,05	0,60
123:Gp1 An9, Post LPS, 1,5 h	27,98	0,40	0,76	11,01	0,93	6,78	6,08	1,28	3,39	0,22	0,56	0,26	58,48	0,34	57,82	0,06	2,01
In Vitro LPS, Ing/ml, 6h	0,38	0,35	0,52	6,38	0,38	0,91	10,43	1004,66	48,59	0,89	8,54	0,87	2,07	0,66	8,03	0,14	5,85
123:Gp2 An1, Post LPS, 4 h	3,74	0,11	0,03	2,18	0,39	0,12	0,33	0,52	4,68	0,20	0,28	0,10	3,95	0,63	4,58	0,01	1,00
123:Gp2 An2, Post LPS, 4 h	5,59	0,09	0,03	2,18	0,45	0,26	0,52	1,05	11,16	0,30	0,63	0,14	0,70	0,36	4,58	0,02	0,69
123:Gp2 An3, Post LPS, 4 h	8,42	0,09	0,07	3,24	0,27	0,35	0,47	1,18	9,20	0,16	0,27	0,13	2,51	0,33	2,99	0,01	0,49
123:Gp2 An4, Post LPS, 4 h	9,34	0,14	0,12	4,10	0,51	0,67	0,48	2,08	14,73	0,32	0,53	0,16	1,18	0,56	2,99	0,01	0,84
123:Gp2 An5, Post LPS, 4 h	22,13	0,14	0,08	3,01	1,94	1,56	1,13	2,77	20,66	0,45	1,49	0,26	114,08	0,85	17,10	0,01	1,14
123:Gp2 An6, Post LPS, 4 h	11,06	0,13	0,05	2,14	1,21	0,68	0,58	1,43	15,76	0,58	0,70	0,22	11,57	0,55	2,99	0,02	0,46
123:Gp2 An7, Post LPS, 4 h	26,25	0,17	0,07	3,24	2,14	0,97	0,84	2,55	34,70	0,97	1,32	0,28	4,25	0,61	2,37	0,03	0,99
123:Gp2 An8, Post LPS, 4 h	7,71	0,13	0,09	2,06	0,95	0,57	1,18	2,87	20,71	0,52	0,86	0,23	2,62	0,50	2,99	0,03	0,57
123:Gp2 An9, Post LPS, 4 h	5,41	0,22	0,09	2,06	0,38	0,66	0,81	1,72	11,35	0,18	0,55	0,22	0,65	0,35	2,99	0,01	0,60
123:Gp2 An10, Post LPS, 4 h	11,96	0,12	0,10	3,27	0,91	0,61	0,77	2,71	19,41	0,63	1,12	0,18	3,98	0,58	2,48	0,01	0,86
In Vitro LPS, Ing/ml, 24h	0,47	0,62	0,73	3,63	3,38	0,57	8,50	38,05	40,22	0,89	1,52	0,94	3,97	0,74	11,00	0,16	51,98
123:Gp3 An1, Post LPS, 24 h	11,13	0,23	0,16	1,42	2,26	1,07	0,77	3,91	4,70	2,30	1,21	0,38	2,55	0,44	4,86	0,30	0,81
123:Gp3 An2, Post LPS, 24 h	14,76	0,29	0,30	2,19	2,19	1,16	0,66	2,27	6,09	2,59	1,37	0,48	0,86	0,45	2,91	0,37	5,63
123:Gp3 An3, Post LPS, 24 h	8,28	0,17	0,17	1,55	1,55	0,47	0,62	2,27	4,19	2,40	0,84	0,24	0,95	0,35	2,99	0,21	0,43
123:Gp3 An4, Post LPS, 24 h	3,03	0,17	0,18	2,94	1,15	0,40	0,41	1,93	2,94	2,10	0,95	0,24	0,72	0,39	2,99	0,24	0,43
123:Gp3 An5, Post LPS, 24 h	9,86	0,52	0,85	2,94	2,76	1,06	0,97	3,25	5,59	3,57	1,59	0,57	2,93	0,38	15,02	0,32	0,84
123:Gp3 An6, Post LPS, 24 h	15,51	0,23	0,13	2,46	1,86	0,54	1,28	2,65	7,51	5,28	2,46	0,49	0,68	0,39	2,99	0,23	0,78
123:Gp3 An7, Post LPS, 24 h	17,10	0,11	0,14	3,40	3,40	0,74	1,25	5,09	12,99	3,83	3,22	0,41	1,25	0,43	7,22	0,14	0,84
123:Gp3 An8, Post LPS, 24 h	23,02	0,24	0,42	2,46	4,92	2,25	1,97	6,39	7,27	3,87	2,36	0,58	3,54	0,44	5,98	0,16	14,01
123:Gp3 An9, Post LPS, 24 h	20,32	0,28	1,05	3,83	5,05	5,33	1,12	3,55	6,27	2,05	1,56	0,36	14,92	0,57	6,17	0,20	0,66
123:Gp3 An10, Post LPS, 24 h	20,70	0,12	0,10	3,83	2,33	0,82	1,33	3,73	6,43	3,51	2,14	0,48	0,97	0,22	1,85	0,15	0,84

Valor nulo indica que tanto la muestra tratada como la de calibración tienen al menos 1 repetición FAM "no determinada" (CT>40) automáticamente ajustado a 40
 XXX Valor rojo indica que al menos 1 repetición FAM era "no determinada" (CT>40) y se ajustaba automáticamente a 40

Tabla 19: Valores de expresión relativa (2^{-delta delta CT}) para sangre entera tratada con LPS+Dexametasona a las 2 ó 1,5 h, 6 ó 4 h y 21 ó 24 h in vivo e in vitro, respectivamente

Nombre de la muestra		CD14	CD1Z	CD5A	F3	HROX1	NSPATA	(CAM1)	IL1B	IL1RR	MMP9	PLAZG7	PTPRC	SERPINE1	TGFBI	TIMP1	TNFSF5	VEGF
In Vivo Dexametasona 1ug/ml + LPS, 1ug/ml, 2h		0,76	0,89	0,73	61,78	0,10	0,71	25,15	588,15	83,80	1,16	1,14	0,88	1,08	2,03	0,49	1,45	
123Gm8 An1, Post LPS Dex, 1,5 h		0,97	0,90	0,75	0,96	1,13	0,13	0,70	0,56	0,63	1,48	1,62	0,87	0,88	0,47	0,36	0,68	0,50
123Gm8 An2, Post LPS Dex, 1,5 h		1,29	1,11	1,79	0,32	0,96	2,51	0,87	0,75	0,95	2,72	1,13	0,79	0,81	0,33	0,14	0,68	0,89
123Gm8 An3, Post LPS Dex, 1,5 h		0,63	0,65	0,45	0,38	3,57	39,28	0,67	0,77	0,78	1,11	0,81	0,65	0,60	0,87	0,48	0,32	0,70
123Gm8 An4, Post LPS Dex, 1,5 h		1,22	0,64	0,78	1,08	4,38	11,33	0,60	0,86	0,86	1,23	1,41	0,57	2,14	0,62	0,79	0,61	0,55
123Gm8 An5, Post LPS Dex, 1,5 h		0,60	0,58	0,37	0,30	0,85	0,17	0,45	0,40	0,46	0,87	1,29	0,59	1,65	0,87	0,73	0,67	1,32
123Gm8 An6, Post LPS Dex, 1,5 h		0,47	0,58	0,26	0,38	0,52	0,13	0,43	0,38	0,33	0,44	0,80	0,51	0,95	0,76	0,17	0,76	0,83
123Gm8 An7, Post LPS Dex, 1,5 h		0,38	0,54	0,50	0,07	0,35	0,11	0,36	0,74	0,54	0,55	0,41	0,48	0,20	0,81	0,12	0,52	0,89
123Gm8 An8, Post LPS Dex, 1,5 h		1,04	0,62	0,55	0,73	0,73	0,40	0,78	0,84	1,05	1,61	0,85	0,63	0,21	0,67	0,14	0,54	0,63
123Gm8 An9, Post LPS Dex, 1,5 h		1,05	0,77	0,43	0,82	0,71	2,64	1,05	1,31	1,36	1,83	0,80	0,73	0,17	0,93	0,10	0,79	0,79
123Gm8 An10, Post LPS Dex, 1,5 h		0,94	0,42	0,46	0,67	0,62	0,87	0,46	0,87	0,81	1,61	0,88	0,44	0,53	0,74	0,16	0,13	0,57
In Vivo Dexametasona 1ug/ml + LPS, 1ug/ml, 6h		1,03	0,42	0,61	3,31	0,67	0,59	5,75	70,84	2,43	0,39	1,68	0,77	1,91	0,56	3,73	0,12	4,62
123Gm8 An1, Post LPS Dex, 4 h		0,51	0,82	2,11	0,87	0,82	0,52	0,55	0,44	0,74	1,14	1,06	0,89	0,46	0,56	0,74	0,48	0,95
123Gm8 An2, Post LPS Dex, 4 h		0,39	0,63	1,35	0,38	0,19	0,31	0,30	0,79	0,16	0,43	0,62	0,19	0,67	0,09	0,53	0,87	0,66
123Gm8 An3, Post LPS Dex, 4 h		1,36	0,33	0,58	0,46	0,59	0,80	0,37	1,01	0,92	1,69	0,87	0,59	0,79	0,35	0,65	0,47	0,39
123Gm8 An4, Post LPS Dex, 4 h		0,69	0,53	0,84	1,74	0,81	0,78	0,41	0,64	0,73	1,15	0,71	0,52	0,47	0,60	0,82	0,69	0,51
123Gm8 An5, Post LPS Dex, 4 h		1,05	0,92	0,94	0,52	0,59	0,19	0,45	0,38	0,61	1,25	0,75	0,68	0,69	0,35	0,64	2,01	1,27
123Gm8 An6, Post LPS Dex, 4 h		3,00	1,03	1,84	4,32	1,39	1,25	1,08	1,92	1,88	3,60	2,20	1,42	1,10	0,52	0,50	0,89	0,94
123Gm8 An7, Post LPS Dex, 4 h		1,37	0,80	1,71	0,40	1,40	0,57	0,68	0,94	1,37	2,41	1,25	0,63	1,99	0,60	0,68	3,21	0,61
123Gm8 An8, Post LPS Dex, 4 h		0,98	0,52	1,25	0,28	1,04	1,90	0,59	0,89	0,95	1,96	0,91	0,71	0,84	0,85	0,55	0,73	0,74
123Gm8 An9, Post LPS Dex, 4 h		0,68	0,35	0,50	2,28	0,70	2,44	0,56	0,69	0,87	1,33	1,33	0,61	0,51	1,07	0,62	0,54	0,27
In Vivo Dexametasona 1ug/ml + LPS, 1ug/ml, 24h		0,70	1,08	1,29	0,70	0,87	0,67	0,88	0,82	0,64	0,88	1,22	1,14	0,73	0,71	0,76	1,25	0,77
123Gm8 An1, Post LPS Dex, 24 h		1,14	0,43	0,41	0,84	1,92	1,10	1,73	1,92	2,03	1,13	2,21	1,18	0,66	1,15	0,31	0,35	1,73
123Gm8 An2, Post LPS Dex, 24 h		0,80	0,85	1,01	0,84	0,78	0,45	0,95	0,72	0,88	0,74	1,13	0,83	0,30	0,79	0,21	0,63	0,46
123Gm8 An3, Post LPS Dex, 24 h		1,81	1,08	1,19	0,81	3,06	0,82	1,44	1,31	2,50	1,54	3,34	1,45	1,71	2,37	0,46	1,12	1,89
123Gm8 An4, Post LPS Dex, 24 h		2,55	0,70	0,78	1,41	3,23	3,78	1,83	1,13	1,65	1,00	1,63	1,45	8,21	1,24	2,23	0,85	1,98
123Gm8 An5, Post LPS Dex, 24 h		2,02	0,97	1,66	0,64	2,07	0,65	1,71	1,35	1,79	1,24	1,65	1,46	1,42	1,00	0,42	0,78	1,44
123Gm8 An7, Post LPS Dex, 24 h		2,08	1,83	3,07	0,69	1,30	0,84	1,92	2,29	1,80	0,94	1,54	1,93	0,30	1,30	0,27	1,54	0,73
123Gm8 An8, Post LPS Dex, 24 h		2,02	0,82	1,05	0,67	2,41	2,05	2,51	1,89	2,88	1,52	2,68	1,38	1,28	1,57	0,43	0,91	0,78
123Gm8 An9, Post LPS Dex, 24 h		4,91	1,83	2,84	0,54	4,42	3,49	4,45	3,60	2,80	1,97	5,43	3,18	2,31	2,10	3,69	0,97	1,56
123Gm8 An10, Post LPS Dex, 24 h		2,40	0,95	1,18	3,42	5,55	4,33	3,34	1,41	1,60	1,20	6,74	1,96	6,50	1,94	4,51	0,76	1,31

XXXXXX Valor nulo indica que tanto la muestra tratada como la de calibración tienen al menos 1 repetición FAM "no determinada" (CT>40) automáticamente ajustado a 40
 XXXX Valor rojo indica que al menos 1 repetición FAM era "no determinada" (CT>40) y se ajustó automáticamente a 40

Tabla 20A: Esquema del estudio para el modelo de artritis CIA murina

Modelo de CIA de ratón (ratones macho DBA/1)						
Tratamiento	Valor de referencia, sin tratamiento previo, D0	CIA D24	CIA D33	CIA D42	CIA D60	sin tratamiento previo D60
CIA tratada con vehículo			6	6	6	
CIA tratada con fármaco			6	6	6	
No tratada	6	6				6

Tabla 20B: Esquema del estudio para el modelo de artritis KRN murina

Modelo de KRN de ratón (ratones hembra BALB/c)						
Tratamiento	Valor de referencia, sin tratamiento previo, D0	KRN D3	KRN D7	KRN D14	KRN D21	sin tratamiento previo D21
KRN tratada con vehículo			6	6	6	
KRN tratada con fármaco			6	6	6	
No tratada	6	6				6

Tabla 23 (continuación): Valores de CT (delta CT) normalizados de sujetos murinos individuales para la rama de KRN del estudio

Nombre de la muestra*	1528	1529	1530	1531	1532	1533	1534	1535	1536	1537	1538	1539	1540	1541	1542	1543	1544	1545	1546	1547	1548	1549	1550	1551	1552	1553	1554	1555	1556	1557	1558	1559	1560	1561	1562	1563	1564	1565	1566	1567	1568	1569	1570	1571	1572	1573	1574	1575	1576	1577	1578	1579	1580	1581	1582	1583	1584	1585	1586	1587	1588	1589	1590	1591	1592	1593	1594	1595	1596	1597	1598	1599	1600																	
KRN Muestra 1	21.1	21.2	21.3	21.4	21.5	21.6	21.7	21.8	21.9	22.0	22.1	22.2	22.3	22.4	22.5	22.6	22.7	22.8	22.9	23.0	23.1	23.2	23.3	23.4	23.5	23.6	23.7	23.8	23.9	24.0	24.1	24.2	24.3	24.4	24.5	24.6	24.7	24.8	24.9	25.0	25.1	25.2	25.3	25.4	25.5	25.6	25.7	25.8	25.9	26.0	26.1	26.2	26.3	26.4	26.5	26.6	26.7	26.8	26.9	27.0	27.1	27.2	27.3	27.4	27.5	27.6	27.7	27.8	27.9	28.0	28.1	28.2	28.3	28.4	28.5	28.6	28.7	28.8	28.9	29.0	29.1	29.2	29.3	29.4	29.5	29.6	29.7	29.8	29.9	30.0

* Nota: El orden de las muestras y los valores de CT (delta CT) normalizados de sujetos murinos individuales para la rama de KRN del estudio se muestran en la Tabla 23. El orden de las muestras y los valores de CT (delta CT) normalizados de sujetos murinos individuales para la rama de KRN del estudio se muestran en la Tabla 23. El orden de las muestras y los valores de CT (delta CT) normalizados de sujetos murinos individuales para la rama de KRN del estudio se muestran en la Tabla 23.

Tabla 24: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos sin tratamiento previo individuales, modelo de CIA, el día 60

Nombre de la muestra	ABCA1_M	APAF1_M	ARG2_M	CASP1_M	CASP3_M	CCR3_M	CD14_M	CD19_M	CD3Z_M	CD86_M	CD8A_M	CSPG2_M
Valor de referencia de CIA medio (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 60 AM Ctr 1:200065051	1.99	2.60	4.32	2.27	1.61	1.43	1.84	2.33	1.21	1.83	0.82	5.26
CIA Día 60 AM Ctr 2:200065052	1.56	1.91	4.53	1.66	2.31	0.85	1.56	1.50	0.63	0.97	0.57	9.08
CIA Día 60 AM Ctr 3:200065053	1.72	2.12	1.41	1.65	1.23	1.00	0.50	1.45	1.03	1.24	0.81	2.03
CIA Día 60 AM Ctr 4:200065054	2.46	2.86	4.00	1.91	1.63	1.45	2.04	2.18	1.33	2.01	0.94	5.64
CIA Día 60 AM Ctr 5:200065055	1.24	1.91	1.95	1.57	1.96	0.61	1.44	2.18	0.60	1.60	0.57	2.56
CIA Día 60 AM Ctr 6:200065056	1.23	1.36	3.03	1.08	2.39	0.61	1.07	1.35	0.40	0.91	0.36	5.02

Nombre de la muestra	F3_M	HMOXI_M	HSPA1A_M	ICAM1_M	IFI16_M	IL1B_M	IL1R2_M	IL1RAP_M	IL1RN_M	IL6_M	JUN_M	MEF2C_M
Valor de referencia de CIA medio (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 60 AM Ctr 1:200065051	0.23	1.43	2.39	1.90	1.45	2.62	2.34	3.74	1.29	1.45	1.45	1.75
CIA Día 60 AM Ctr 2:200065052	0.19	1.41	3.79	1.27	1.06	2.16	2.75	5.04	1.95	1.26	1.26	0.85
CIA Día 60 AM Ctr 3:200065053	0.15	0.80	1.46	1.10	1.00	1.07	1.19	2.29	0.69	4.23	1.99	2.31
CIA Día 60 AM Ctr 4:200065054	0.26	1.46	1.89	1.87	1.35	2.24	2.82	5.08	1.82	3.90	2.04	2.02
CIA Día 60 AM Ctr 5:200065055	0.75	1.43	1.76	1.48	0.79	1.83	1.63	1.89	1.22	2.76	1.61	1.43
CIA Día 60 AM Ctr 6:200065056	0.20	1.04	2.53	0.80	0.88	1.26	1.93	3.46	0.98	1.61	0.95	0.90

Nombre de la muestra	MMP9FM	NFKB1_M	PAD14_M	PLA2G7_M	PTPRC_M	SERPINE1_M	TGFB1_M	TLR2_M	TLR4_M	TNFSF5_M	TNF_M	VEGF_M
Valor de referencia de CIA medio (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 60 AM Ctr 1:200065051	1.83	2.40	2.93	3.29	1.47	5.54	1.61	2.16	2.90	0.99	1.02	1.10
CIA Día 60 AM Ctr 2:200065052	1.83	1.27	1.27	2.10	0.68	1.91	1.33	1.71	2.84	0.58	0.58	0.65
CIA Día 60 AM Ctr 3:200065053	1.24	3.41	1.82	2.01	1.48	1.99	1.99	1.65	1.87	1.15	0.96	0.80
CIA Día 60 AM Ctr 4:200065054	1.88	2.63	2.16	2.81	1.08	3.90	1.55	2.19	2.67	0.90	1.14	1.03
CIA Día 60 AM Ctr 5:200065055	0.70	2.13	2.45	2.57	1.03	1.57	1.92	1.93	1.85	0.81	0.77	1.81
CIA Día 60 AM Ctr 6:200065056	0.70	1.11	1.54	1.15	0.46	1.57	1.07	1.14	1.68	0.29	0.34	0.46

XXX

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (>40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDx para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador no se expresan (FAM reajustado a 40). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en este caso IL10, IL1A, PTX3 y TIMP1).

Tabla 25: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos sin tratamiento previo individuales, modelo de KRN, el día 21 respecto a la media

Nombre de la muestra	ABCA1_M	APAF1_M	ARG2_M	CASP1_M	CASP3_M	CCR3_M	CD14_M	CD19_M	CD32_M	CD86_M	CD8A_M
KRN medio s.l.p. (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
N Dia 21 S.t.p. 1:200065172	0.96	0.85	1.62	0.83	0.72	1.43	0.69	0.70	0.79	1.32	0.74
N Dia 21 S.t.p. 2:200065173	1.07	1.12	1.19	0.96	0.66	0.94	1.26	0.75	0.90	1.79	0.73
N Dia 21 S.t.p. 3:200065195	1.23	1.61	2.02	1.32	0.69	0.81	1.13	1.14	1.54	1.11	1.00
N Dia 21 Nalve 4:200065196	1.25	1.51	1.73	1.35	0.83	2.03	1.29	1.01	1.14	0.91	1.07
N Dia 21 S.t.p. 5:200065197	0.81	0.88	1.62	1.22	0.73	1.08	1.15	0.83	0.93	1.22	1.08
N Dia 21 S.t.p. 6:200065198	1.05	0.96	1.14	0.92	0.77	0.57	1.29	0.67	0.73	0.71	0.55

Nombre de la muestra	F3_M	HMOX1_M	HSPA1A_M	ICAM1_M	IF15_M	IL1B_M	IL1R2_M	IL1RAP_M	IL1RN_M	IL6_M	JUN_M	MEF2C_M
KRN medio s.l.p. (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
N Dia 21 S.t.p. 1:200065172	0.83	0.83	2.42	0.96	0.91	1.27	1.03	1.06	1.25	1.30	1.30	0.74
N Dia 21 S.t.p. 2:200065173	0.98	0.98	1.02	0.84	0.94	1.49	0.95	0.98	1.10	1.10	1.90	1.06
N Dia 21 S.t.p. 3:200065195	1.46	1.46	0.88	0.88	1.27	1.43	1.30	1.30	1.23	1.23	1.65	1.52
N Dia 21 S.t.p. 4:200065196	1.12	1.16	1.06	1.23	0.90	1.17	0.84	1.11	1.35	1.35	1.23	1.52
N Dia 21 S.t.p. 5:200065197	0.81	0.81	1.23	1.17	1.38	1.30	0.98	1.27	0.90	0.90	1.48	1.53
N Dia 21 S.t.p. 6:200065198	2.02	0.87	0.69	0.81	0.77	1.00	0.57	0.68	0.81	1.02	0.71	1.37

Nombre de la muestra	MMP9_M	INFKB1_M	PADI4_M	PEAZG7_M	PTPRC_M	SERPINE1_M	TGFB1_M	TLR2_M	TLR4_M	TRF5F5_M	TNF_M	VEGF_M
KRN medio s.l.p. (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
N Dia 21 S.t.p. 1:200065172	1.25	0.82	0.86	0.94	0.96	1.43	0.93	0.61	0.95	1.24	2.02	0.85
N Dia 21 S.t.p. 2:200065173	1.08	0.86	1.33	1.03	0.84	1.47	0.75	1.11	1.29	1.29	0.81	0.69
N Dia 21 S.t.p. 3:200065195	0.97	1.41	1.63	1.38	1.26	2.23	1.05	1.19	1.64	1.80	1.46	0.35
N Dia 21 S.t.p. 4:200065196	0.71	0.90	0.97	0.86	0.67	1.06	0.86	1.01	1.05	0.96	1.18	2.33
N Dia 21 S.t.p. 5:200065197	1.45	1.36	1.68	1.77	1.83	1.27	1.02	1.35	1.69	1.23	0.96	0.98
N Dia 21 S.t.p. 6:200065198	0.87	0.81	1.21	0.94	0.80	1.54	0.85	0.85	0.81	0.88	0.93	0.47

S.t.p.= sin tratamiento previo

XXX

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (>40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDx para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador no se expresan (FAM reajustado a 40). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en este caso CSPG2, IL10, IL1A, PTX3 y TIMP1, IL6 está en la tabla pero no en la gráfica).

Tabla 26: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de CIA de la evolución de la enfermedad los días 24 (no tratados), 33, 42 y 60 (tratados con vehículo

Nombre de la muestra	ABCA1 M	APAF1 M	ARG2 M	CASPI1 M	CASP3 M	CCR3 M	CD14 M	CD19 M	CD3Z M	CD85 M	CD8A M	CSPG2 M
Valor de referencia de CIA medio (00, animales 1-4)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 24 1:200065014	4.12	5.08	14.33	3.47	5.67	2.08	7.81	2.73	1.03	2.66	0.80	21.13
CIA Día 24 2:200065009	1.68	2.42	10.66	1.08	3.37	1.26	4.51	1.21	0.47	1.46	0.37	13.28
CIA Día 24 3:200065010	0.62	1.47	6.33	1.58	2.43	0.75	1.94	0.72	0.26	0.54	0.21	5.65
CIA Día 24 4:200065011	1.32	2.26	7.24	1.65	3.06	1.56	2.17	1.35	0.74	1.72	0.39	19.23
CIA Día 24 5:200065012	2.00	3.12	12.44	1.94	4.31	1.57	6.04	1.75	0.41	1.20	0.23	13.13
CIA Día 33 Vehículo 1:200065015	1.67	2.46	12.73	1.94	2.99	0.98	4.54	1.40	0.51	0.94	0.20	8.89
CIA Día 33 Vehículo 2:200065016	1.84	3.89	14.16	1.88	6.08	1.80	8.43	1.11	1.05	1.02	0.85	21.77
CIA Día 33 Vehículo 3:200065017	1.97	2.64	9.54	2.03	5.79	2.15	3.57	1.87	1.12	1.93	1.38	19.12
CIA Día 33 Vehículo 4:200065018	1.56	2.50	10.62	1.80	3.03	3.01	6.06	1.80	1.12	2.70	1.56	39.37
CIA Día 33 Vehículo 5:200065019	1.39	1.73	4.57	1.00	3.15	1.04	3.75	1.10	0.34	0.78	0.52	8.50
CIA Día 33 Vehículo 6:200065020	2.54	2.75	5.14	2.02	2.88	0.83	4.87	1.20	1.14	2.37	0.75	49.16
CIA Día 42 Vehículo 1:200065021	1.34	2.17	5.60	0.97	4.65	2.19	2.76	1.22	0.92	1.21	1.04	7.78
CIA Día 42 Vehículo 2:200065022	0.88	1.08	3.18	0.74	2.83	1.30	2.14	0.88	0.43	0.65	0.32	2.00
CIA Día 42 Vehículo 3:200065023	1.06	1.39	3.37	0.74	2.95	1.71	2.70	0.95	0.45	0.60	0.55	2.52
CIA Día 42 Vehículo 4:200065024	1.90	1.66	6.08	1.48	2.75	2.19	2.45	1.96	0.81	1.18	0.92	7.58
CIA Día 42 Vehículo 5:200065025	1.09	2.20	8.27	1.10	2.50	1.85	3.84	1.02	0.70	0.84	0.67	11.30
CIA Día 42 Vehículo 6:200065026	0.69	1.58	5.60	0.69	2.63	1.09	3.07	1.01	0.53	0.90	0.69	3.75
CIA Día 60 Vehículo 1:200065027	1.99	2.36	7.03	1.74	2.13	1.01	2.84	2.38	1.05	1.35	1.39	9.98
CIA Día 60 Vehículo 2:200065028	2.29	2.87	4.45	1.35	1.99	1.80	3.63	2.34	0.91	1.60	0.69	7.79
CIA Día 60 Vehículo 3:200065029	3.34	3.30	5.15	2.33	3.37	1.79	4.20	4.84	1.12	2.72	1.52	17.40
CIA Día 60 Vehículo 4:200065030	3.17	2.62	2.64	2.20	1.86	3.47	2.39	3.67	0.76	1.78	1.01	5.31
CIA Día 60 Vehículo 5:200065031	2.36	2.94	5.97	2.17	2.09	3.52	2.28	3.22	0.80	2.01	0.86	8.15
CIA Día 60 Vehículo 6:200065032	2.21	2.10	3.89	1.76	2.94	2.04	2.72	2.56	0.48	1.20	0.55	7.30
Nombre de la muestra	F3 M	HMOX1 M	HSPA1A M	ICAM1 M	IF16 M	IL1B M	IL1R2 M	IL1RAP M	IL1RN M	IL6 M	JUN M	MEF2C M
Valor de referencia de CIA medio (00, animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 24 1:200065014	0.18	3.60	2.71	2.69	1.88	7.88	6.73	11.46	3.67	2.75	3.01	1.74
CIA Día 24 2:200065009	0.98	3.96	1.79	1.24	0.81	3.52	8.37	8.60	2.64	2.73	1.13	0.80
CIA Día 24 3:200065010	0.78	1.32	2.42	0.72	0.45	1.63	4.78	5.94	1.62	2.82	1.09	1.02
CIA Día 24 4:200065011	0.19	1.90	1.65	1.25	0.71	3.50	3.51	7.24	2.20	3.02	1.05	1.27
CIA Día 24 5:200065012	0.27	3.06	3.12	1.43	0.82	4.30	9.64	7.41	2.92	3.89	1.23	1.58
CIA Día 24 6:200065013	0.28	2.86	2.14	1.51	0.68	5.21	7.48	9.04	3.22	1.90	1.42	1.33
CIA Día 33 Vehículo 1:200065015	0.34	5.92	2.61	1.46	0.84	6.49	18.26	9.56	5.28	5.77	1.68	0.92
CIA Día 33 Vehículo 2:200065016	0.28	2.70	2.18	1.78	1.09	4.33	5.04	7.58	3.95	7.09	1.77	2.08
CIA Día 33 Vehículo 3:200065017	0.16	2.87	3.19	2.39	1.49	4.38	7.43	6.93	3.71	7.46	3.75	2.43
CIA Día 33 Vehículo 4:200065018	2.69	2.46	4.60	1.24	0.44	3.78	5.70	5.17	2.66	4.92	1.48	1.09
CIA Día 33 Vehículo 5:200065019	0.23	1.26	1.19	0.83	0.51	2.21	2.87	2.81	1.62	2.52	0.95	0.74
CIA Día 33 Vehículo 6:200065020	0.11	2.64	1.97	2.01	1.02	2.35	4.16	4.12	2.00	5.08	2.52	2.18
CIA Día 42 Vehículo 1:200065021	0.18	1.91	2.76	0.91	0.87	1.72	3.48	3.58	2.40	6.60	0.65	1.66
CIA Día 42 Vehículo 2:200065022	0.63	0.80	1.06	0.42	0.35	1.31	2.40	1.71	0.94	4.92	0.60	1.11
CIA Día 42 Vehículo 3:200065023	0.17	1.07	2.37	0.44	0.37	1.89	3.31	2.41	1.51	3.52	0.71	1.00
CIA Día 42 Vehículo 4:200065024	0.26	1.52	2.67	1.52	0.84	2.68	3.17	3.03	2.45	3.52	0.60	1.66
CIA Día 42 Vehículo 5:200065025	0.28	1.85	1.02	0.83	0.82	3.24	5.76	4.95	3.29	5.15	1.06	1.25
CIA Día 42 Vehículo 6:200065026	0.15	1.69	1.89	0.87	0.34	2.54	3.74	3.61	2.07	3.51	0.63	1.06
CIA Día 60 Vehículo 1:200065027	0.23	1.55	4.05	1.39	0.81	3.44	3.12	2.94	2.84	3.11	1.40	1.30
CIA Día 60 Vehículo 2:200065028	0.32	1.32	3.57	1.06	0.69	2.76	2.38	4.13	2.01	2.52	1.29	1.99
CIA Día 60 Vehículo 3:200065029	0.34	1.92	2.99	1.87	0.69	2.40	2.55	3.29	1.75	2.97	2.43	2.63
CIA Día 60 Vehículo 4:200065030	0.20	0.79	2.73	1.57	0.69	1.77	1.30	2.18	1.59	5.13	1.81	2.63
CIA Día 60 Vehículo 5:200065031	0.17	1.93	3.59	1.83	1.33	2.37	2.46	3.44	2.06	4.91	2.02	2.01
CIA Día 60 Vehículo 6:200065032	0.17	1.90	2.20	1.50	0.84	2.97	2.39	2.04	1.49	2.68	1.47	2.27

Tabla 26 continuación: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de CIA de la evolución de la enfermedad los días 24 (no tratados), 33, 42 y 60 (tratados con vehículo

Nombre de la muestra	MMRB_M	MFKB1_M	PAD14_M	PLA2G7_M	PTPRC_M	SERPINE1_M	IGFBP1_M	TIMP1_M	TLR2_M	TLR4_M	TNFSF5_M	TNF_M	VEGF_M
CIA Día 24 1:200065014	8.01	2.79	11.91	9.56	2.10	2.59	3.41	3.69	5.69	6.70	0.74	1.80	2.57
CIA Día 24 2:200065009	7.26	1.02	14.81	4.85	0.92	2.27	2.39	3.65	4.98	4.98	0.28	0.57	1.38
CIA Día 24 3:200065010	6.42	0.94	9.73	4.83	0.86	3.71	2.96	2.91	2.91	4.85	0.42	0.52	1.57
CIA Día 24 4:200065011	6.76	1.35	10.34	4.76	1.30	2.59	2.67	3.33	3.33	4.42	0.49	0.62	1.65
CIA Día 24 5:200065012	12.55	1.31	20.04	6.06	1.48	0.93	3.83	5.08	5.08	4.72	0.32	0.74	1.28
CIA Día 24 6:200065013	13.63	1.87	15.04	7.32	1.51	2.74	2.74	5.00	5.00	5.67	0.25	0.48	1.16
CIA Día 33 Vehículo 1:200065015	10.65	1.85	24.45	7.25	1.48	3.14	3.26	7.46	7.46	6.72	0.74	1.19	3.19
CIA Día 33 Vehículo 2:200065016	9.71	2.70	18.42	7.63	1.90	5.41	4.71	5.89	5.89	6.25	1.18	1.21	3.33
CIA Día 33 Vehículo 3:200065017	7.06	3.47	16.72	7.10	1.74	2.20	3.85	8.84	8.84	6.25	1.17	1.35	1.91
CIA Día 33 Vehículo 4:200065018	7.04	1.37	13.21	4.73	0.98	3.26	2.35	4.33	4.33	5.27	0.35	0.72	2.37
CIA Día 33 Vehículo 5:200065019	3.97	1.08	5.80	2.50	0.70	2.33	2.33	2.22	2.22	1.74	0.45	0.39	0.82
CIA Día 33 Vehículo 6:200065020	4.53	4.73	8.27	5.39	1.44	4.28	4.88	6.74	6.74	2.24	0.95	1.25	2.05
CIA Día 42 Vehículo 1:200065027	3.14	1.02	6.55	2.12	0.74	1.11	2.09	1.88	1.88	2.24	0.74	0.90	0.24
CIA Día 42 Vehículo 2:200065028	3.21	1.22	4.50	2.24	0.76	1.28	2.14	1.28	1.28	1.23	0.37	0.50	2.61
CIA Día 42 Vehículo 3:200065029	4.79	1.62	6.72	2.44	0.90	2.33	2.41	1.34	1.34	1.37	0.52	0.46	0.84
CIA Día 42 Vehículo 4:200065030	4.58	1.14	9.59	3.62	1.05	0.86	1.93	3.26	3.26	2.45	0.41	0.69	1.60
CIA Día 42 Vehículo 5:200065031	5.08	0.90	9.47	3.01	0.65	1.18	2.14	1.68	1.68	2.72	0.38	0.56	1.63
CIA Día 42 Vehículo 6:200065032	1.91	1.83	3.92	2.44	0.83	1.87	1.67	3.64	3.64	2.65	0.44	0.48	1.58
CIA Día 60 Vehículo 1:200065039	2.89	3.21	5.11	3.27	1.46	1.04	1.78	2.15	2.15	4.07	0.87	0.59	2.55
CIA Día 60 Vehículo 2:200065040	2.33	3.10	3.69	2.19	1.56	4.13	2.05	3.69	3.69	3.08	0.72	0.87	1.46
CIA Día 60 Vehículo 3:200065041	2.54	3.76	5.23	3.92	1.12	5.84	2.08	2.52	2.52	2.42	0.68	0.87	1.35
CIA Día 60 Vehículo 4:200065042	2.68	2.59	4.28	2.93	1.12	3.11	1.87	3.80	3.80	2.45	0.54	0.54	2.21
CIA Día 60 Vehículo 5:200065043								3.25	3.25	2.64	0.49	0.71	1.99
CIA Día 60 Vehículo 6:200065044													

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (>40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDx para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador no se expresan (FAM reajustado a 40). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en esta caso IL1A, IL10 y PTX3, TIMP1 está en la tabla pero no en la gráfica).

XXX



Tabla 27: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de KRN de la evolución de la enfermedad los días 3 (no tratados), 7, 14 y 21 (tratados con vehículo)

Nombre de la muestra KRN s.t.p. (D0, animales 1-6)	ABCA1 M	APAF1 M	ARG2 M	CASPI1 M	CASP3 M	CCR3 M	CD14 M	CD19 M	CD32 M	CDB6 M	CD8A M	CSPG2 M
Día 3 1:200065180	0.55	0.48	1.27	0.64	0.89	0.50	1.09	0.28	0.42	0.48	0.37	18.23
Día 3 2:200065181	0.59	0.80	1.32	0.54	1.95	0.80	1.18	0.36	0.72	1.18	0.75	13.02
Día 3 3:200065182	0.79	0.64	1.07	0.70	1.35	0.81	1.76	0.31	0.52	0.70	0.71	13.67
Día 3 4:200065183	0.98	1.22	2.11	1.00	2.08	1.16	2.08	0.46	1.03	1.22	1.03	24.31
Día 3 5:200065184	0.71	0.77	1.13	0.45	1.82	0.84	0.63	0.26	0.75	0.51	0.72	6.68
Día 3 6:200065185	0.97	1.23	1.29	0.95	1.25	1.19	1.20	0.45	0.72	0.71	0.77	16.39
Día 7 Vehículo 1:200065186	0.65	0.82	1.11	1.00	1.50	0.92	1.32	0.40	0.78	0.99	1.17	27.86
Día 7 Vehículo 2:200065187	2.49	2.59	1.60	1.75	1.41	1.49	2.48	0.84	1.46	1.27	1.58	35.54
Día 7 Vehículo 3:200065188	1.75	1.66	1.44	2.17	2.54	2.03	2.62	0.76	2.06	1.54	2.16	28.46
Día 7 Vehículo 4:200065189	2.15	2.33	1.39	1.60	1.42	1.97	2.61	1.05	1.81	1.38	1.64	22.31
Día 7 Vehículo 5:200065190	1.29	1.42	0.93	1.36	1.04	1.59	1.57	0.86	1.81	1.53	2.00	29.93
Día 7 Vehículo 6:200065191	1.79	1.63	1.79	1.56	1.11	1.89	1.30	0.87	1.70	1.52	1.86	41.78
Día 14 Vehículo 1:200065202	1.34	2.08	1.58	1.34	1.24	1.13	1.82	0.74	1.97	1.07	1.81	8.03
Día 14 Vehículo 2:200065203	1.33	1.82	1.37	1.54	1.61	1.92	1.54	0.95	1.44	1.29	2.01	8.14
Día 14 Vehículo 3:200065204	1.98	1.49	2.10	1.58	1.53	1.70	1.77	1.31	1.54	1.47	2.18	1.27
Día 14 Vehículo 4:200065205	1.14	1.42	1.64	1.26	1.39	1.66	1.54	0.50	0.65	1.05	1.41	7.09
Día 14 Vehículo 5:200065206	0.27	1.12	1.18	0.61	1.01	1.37	1.02	0.15	0.65	0.83	0.59	3.94
Día 14 Vehículo 6:200065207	0.81	0.92	1.47	1.12	1.21	1.25	0.83	0.67	0.78	0.81	1.03	3.68
Día 21 Vehículo 1:200065214	0.76	0.73	1.39	0.48	1.13	0.51	1.13	0.68	0.89	0.91	0.99	1.49
Día 21 Vehículo 2:200065215	0.84	0.74	1.26	0.62	0.88	2.19	0.52	0.70	0.84	0.97	0.84	1.97
Día 21 Vehículo 3:200065216	0.90	0.64	0.89	0.61	0.82	0.79	0.83	0.63	0.74	0.63	0.81	1.93
Día 21 Vehículo 4:200065217	0.53	0.55	0.81	0.55	0.84	1.02	0.68	0.39	0.54	0.43	0.49	1.78
Día 21 Vehículo 5:200065218	1.41	1.64	2.08	1.00	0.85	1.73	1.53	0.58	1.43	1.29	1.20	1.49
Día 21 Vehículo 6:200065219	0.44	0.52	1.07	0.56	0.83	0.78	0.75	0.32	0.58	0.59	0.50	0.91

Tabla 27 continuación: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de KRN de la evolución de la enfermedad los días 3 (no tratados), 7, 14 y 21 (tratados con vehículo)

Nombre de la muestra	NFKB1 M	PAD1A M	PLA2G7 M	PIPRC M	SERPINE1 M	TGFBI1 M	TIMP1 M	TLR2 M	TLR4 M	TNFSF5 M	TNF M	VEGF M
KRN s.t.p. (D0, animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Día 3 1:200065180	0.52	2.27	0.92	0.48	0.94	0.70	1.43	1.43	0.60	0.43	0.83	0.27
Día 3 2:200065181	0.66	2.47	0.88	0.50	1.86	1.03	1.34	1.34	1.20	0.90	0.57	0.82
Día 3 3:200065182	0.72	2.63	0.92	0.55	1.70	0.91	1.62	1.62	0.82	0.95	0.83	0.83
Día 3 4:200065183	0.86	3.18	1.12	0.81	1.82	1.20	2.41	2.41	1.05	1.22	1.37	0.17
Día 3 5:200065184	0.74	2.62	0.83	0.57	1.66	0.96	1.33	1.33	0.71	0.75	0.68	0.55
Día 3 6:200065185	0.73	1.61	0.68	0.59	1.12	0.91	1.41	1.41	0.84	0.69	0.81	1.50
Día 7 Vehículo 1:200065186	1.05	3.91	1.18	0.92	1.95	1.50	2.35	2.35	1.62	1.36	1.88	1.10
Día 7 Vehículo 2:200065187	1.93	2.28	1.74	1.69	1.99	1.70	3.59	3.59	1.40	2.16	2.35	1.07
Día 7 Vehículo 3:200065188	2.05	3.70	1.60	1.97	1.87	1.82	3.12	3.12	1.51	2.84	2.70	1.64
Día 7 Vehículo 4:200065189	2.01	4.30	1.67	1.81	1.18	1.81	3.50	3.50	1.64	3.45	1.94	0.87
Día 7 Vehículo 5:200065190	1.30	1.77	1.40	1.43	3.43	1.35	2.66	2.66	1.06	2.88	2.18	0.85
Día 7 Vehículo 6:200065191	1.52	2.91	1.63	1.60	1.43	1.86	3.37	3.37	1.48	2.21	1.48	0.65
Día 14 Vehículo 1:200065202	1.32	1.36	2.27	1.16	1.32	1.69	1.36	1.36	1.71	2.03	2.08	0.49
Día 14 Vehículo 2:200065203	1.55	1.56	3.18	1.39	2.51	1.35	1.46	1.46	1.11	1.93	2.33	0.49
Día 14 Vehículo 3:200065204	1.83	1.61	1.74	1.82	0.49	1.49	1.67	1.67	1.48	2.59	2.15	0.82
Día 14 Vehículo 4:200065205	1.23	1.35	1.88	1.15	0.98	1.20	1.75	1.75	0.80	1.26	1.67	0.65
Día 14 Vehículo 5:200065206	0.38	1.21	1.52	0.55	1.12	1.12	1.10	1.10	0.77	0.57	0.81	1.15
Día 14 Vehículo 6:200065207	0.86	0.84	1.27	0.79	0.95	1.21	1.28	1.28	1.55	0.88	0.88	0.10
Día 21 Vehículo 1:200065214	0.82	0.45	0.79	0.57	0.55	0.55	0.88	0.88	0.80	0.61	0.63	1.54
Día 21 Vehículo 2:200065215	0.80	1.03	0.82	0.77	1.00	0.97	0.66	0.66	0.87	0.66	0.66	2.31
Día 21 Vehículo 3:200065216	0.64	0.76	0.74	0.71	0.96	0.79	0.62	0.62	0.69	0.73	1.03	0.68
Día 21 Vehículo 4:200065217	0.51	0.70	0.53	0.44	1.30	0.58	0.63	0.63	0.38	0.51	0.35	0.36
Día 21 Vehículo 5:200065218	0.87	1.13	1.40	0.96	1.59	1.09	0.99	0.99	1.33	1.23	0.86	2.04
Día 21 Vehículo 6:200065219	0.47	0.84	0.68	0.48	0.44	0.65	0.54	0.54	0.93	0.85	0.36	0.66

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (>40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDX para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador no se expresan (FAM reajustado a 40). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en esta caso IL1A, IL6, IL10 y PTX3, TIMP1 está en la tabla pero no en la gráfica).

XXX



Tabla 28: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de CIA a la dexametasona los días 33, 42 y 60, con respecto a las respuestas medias respectivas en sujetos murinos tratados con vehículo los días 33, 42 y 60

Nombre de la muestra	ABCA1_M	APAF1_M	ARG2_M	CASP1_M	CASP3_M	CCR3_M	CD14_M	CD19_M	CD3Z_M	CD86_M	CD8A_M	CSPG2_M
CIA media Día Respectivo Vehículo (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 33 Tratado 1:200065021	0.93	1.19	1.61	1.77	2.00	2.00	1.06	1.73	1.00	1.17	1.64	1.16
CIA Día 33 Tratado 2:200065022	0.48	0.81	0.66	0.81	0.71	0.85	0.67	0.79	0.45	0.71	0.91	0.61
CIA Día 33 Tratado 3:200065023	0.79	1.29	1.28	1.10	0.67	1.28	1.23	1.11	0.68	1.08	1.02	1.14
CIA Día 33 Tratado 4:200065024	0.73	0.94	0.84	0.73	0.54	0.51	1.10	1.03	0.64	0.96	0.82	0.39
CIA Día 33 Tratado 5:200065025	0.27	0.62	1.00	0.65	0.56	0.35	0.89	0.51	0.24	0.50	0.54	0.76
CIA Día 33 Tratado 6:200065026	0.45	0.91	0.80	0.87	0.48	0.58	0.79	0.95	0.44	0.80	0.66	0.55
CIA Día 42 Tratado 1:200065033	0.59	1.59	2.78	2.35	1.11	1.09	3.06	0.65	0.83	0.93	0.91	4.05
CIA Día 42 Tratado 2:200065034	0.37	0.85	1.41	2.31	0.95	0.59	1.50	0.56	0.47	1.06	0.83	1.80
CIA Día 42 Tratado 3:200065035	0.39	0.67	0.97	1.12	0.65	0.60	0.90	0.32	0.35	1.05	0.68	1.88
CIA Día 42 Tratado 4:200065036	0.45	1.45	1.79	2.43	0.71	1.18	1.40	0.59	0.61	1.80	0.65	2.27
CIA Día 42 Tratado 5:200065037	0.15	0.84	1.33	0.56	0.59	0.59	0.93	0.19	0.25	0.34	0.20	0.97
CIA Día 42 Tratado 6:200065038	0.41	1.84	1.59	2.10	0.57	0.68	1.53	0.50	0.41	1.47	0.68	3.88
CIA Día 50 Tratado 1:200065045	0.37	1.11	1.98	1.24	1.17	0.36	1.61	0.24	0.58	0.75	0.83	2.13
CIA Día 50 Tratado 2:200065046	0.61	1.57	2.76	1.48	1.84	1.22	2.24	0.31	0.85	1.39	1.87	3.91
CIA Día 50 Tratado 3:200065058	0.40	0.85	1.76	0.83	1.64	0.40	1.70	0.30	0.60	0.65	0.73	1.05
CIA Día 50 Tratado 4:200065048	0.40	1.06	1.91	0.63	0.97	0.35	2.24	0.23	0.41	0.68	0.59	1.75
CIA Día 50 Tratado 5:200065049	0.29	0.81	1.14	0.67	1.39	0.19	1.60	0.23	0.53	0.69	0.93	1.25
CIA Día 50 Tratado 6:200065050	0.42	1.23	3.70	1.40	1.69	0.70	2.12	0.34	0.47	0.70	0.66	3.64

Nombre de la muestra	HMOX1_M	HSPA1A_M	ICAM1_M	IF16_M	IL1B_M	IL1R2_M	IL1RAP_M	IL1RN_M	IL6_M	JUN_M	MEF2C_M	MMP9_M
CIA media Día Respectivo Vehículo (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 33 Tratado 1:200065021	1.14	8.56	1.74	1.83	2.32	1.48	1.82	1.97	0.95	1.90	0.93	0.67
CIA Día 33 Tratado 2:200065022	0.78	3.61	0.90	0.88	1.11	0.71	1.25	0.91	0.49	0.90	0.62	0.61
CIA Día 33 Tratado 3:200065023	1.04	6.25	1.55	0.93	1.65	1.25	1.83	1.51	1.00	1.19	0.89	1.20
CIA Día 33 Tratado 4:200065024	0.76	3.64	0.90	0.77	1.60	1.09	1.60	1.02	0.47	1.28	0.72	0.71
CIA Día 33 Tratado 5:200065025	0.63	5.97	0.78	0.70	1.28	0.88	1.18	1.38	0.47	0.79	0.41	0.54
CIA Día 33 Tratado 6:200065026	0.58	3.02	0.97	0.46	1.32	0.87	1.23	0.98	0.31	0.95	0.86	0.90
CIA Día 42 Tratado 1:200065033	4.63	1.95	2.64	1.87	3.92	2.92	3.79	2.67	0.83	2.54	0.43	1.40
CIA Día 42 Tratado 2:200065034	1.78	1.14	1.87	1.75	2.52	1.79	2.72	1.67	0.45	2.59	0.66	1.50
CIA Día 42 Tratado 3:200065035	0.75	0.80	1.07	1.12	2.35	1.64	2.10	1.29	0.45	1.37	0.39	1.31
CIA Día 42 Tratado 4:200065036	1.33	2.81	1.53	1.64	2.30	1.71	2.00	1.46	1.38	2.11	0.52	0.85
CIA Día 42 Tratado 5:200065037	1.18	0.35	0.82	0.25	2.11	1.53	2.62	1.69	0.36	0.58	0.35	2.10
CIA Día 42 Tratado 6:200065038	1.59	1.59	1.68	1.66	2.47	1.81	2.78	1.71	0.42	2.08	0.46	1.27
CIA Día 60 Tratado 1:200065045	1.54	3.04	1.24	0.92	2.17	3.45	2.52	1.92	0.37	1.02	0.32	2.29
CIA Día 60 Tratado 2:200065046	2.02	2.07	1.29	1.25	2.17	3.36	2.10	2.03	0.75	1.21	0.42	2.24
CIA Día 60 Tratado 3:200065058	1.82	3.40	0.94	0.95	1.91	3.06	2.61	1.67	0.47	1.17	0.34	2.24
CIA Día 60 Tratado 4:200065048	1.30	2.31	0.93	0.50	2.29	2.42	2.32	1.59	0.28	1.51	0.26	2.38
CIA Día 60 Tratado 5:200065049	1.42	2.72	0.93	0.71	1.89	2.57	2.27	1.71	0.36	1.16	0.30	2.12
CIA Día 60 Tratado 6:200065050	2.26	4.15	1.47	1.35	3.01	4.00	3.80	3.70	2.06	0.99	0.33	2.15

Tabla 28 continuación: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de CIA a la dexametasona los días 33, 42 y 60, con respecto a las respuestas medias respectivas de sujetos murinos tratados con vehículo los días 33, 42 y 60

Nombre de la muestra	NFKB1_M	PAD14_M	FLA2G7_M	PTPRC_M	SERPINE1_M	TGFBI_M	TLR2_M	TLR4_M	TNFSF5_M	TNF_M	VEGF_M
CIA media Día respectivo tratados con vehículo (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
CIA Día 33 Tratado 1:200065021	1.23	0.93	1.11	1.29	5.07	0.58	0.99	1.19	0.82	1.50	2.31
CIA Día 33 Tratado 2:200065022	0.68	0.68	0.72	0.74	4.04	0.42	0.62	0.68	0.38	0.56	1.13
CIA Día 33 Tratado 3:200065023	0.85	0.90	0.98	1.08	3.33	0.50	0.85	0.83	0.58	1.24	2.03
CIA Día 33 Tratado 4:200065024	0.76	0.83	0.78	0.74	5.38	0.40	0.60	0.84	0.38	1.00	1.64
CIA Día 33 Tratado 5:200065025	0.41	0.86	0.74	0.60	4.52	0.41	0.65	0.79	0.29	0.58	0.69
CIA Día 33 Tratado 6:200065026	0.70	1.07	0.94	0.94	3.16	0.44	0.67	0.88	0.50	0.73	1.73
CIA Día 42 Tratado 1:200065033	0.83	1.97	2.08	1.15	5.58	0.55	2.78	2.84	0.33	1.33	2.77
CIA Día 42 Tratado 2:200065034	1.10	1.45	1.78	1.05	5.54	0.76	2.90	1.85	0.32	1.15	2.30
CIA Día 42 Tratado 3:200065035	0.81	1.49	1.56	0.97	5.25	0.58	1.50	1.37	0.36	1.29	2.42
CIA Día 42 Tratado 4:200065036	1.00	1.15	1.63	1.02	5.29	0.55	1.83	1.48	0.33	0.70	3.43
CIA Día 42 Tratado 5:200065037	0.28	1.56	1.49	1.06	5.49	2.69	1.86	1.85	0.29	1.01	4.80
CIA Día 42 Tratado 6:200065038	0.82	1.48	1.79	0.95	4.41	0.60	1.90	2.39	0.26	0.72	3.45
CIA Día 60 Tratado 1:200065045	0.54	1.18	1.71	0.73	8.29	0.70	1.64	1.48	0.38	0.99	2.05
CIA Día 60 Tratado 2:200065046	0.66	1.46	2.31	0.87	7.23	0.82	1.50	1.28	0.53	2.37	1.53
CIA Día 60 Tratado 3:200065058	0.72	1.79	1.73	0.68	5.84	0.80	1.28	1.38	0.34	1.14	1.93
CIA Día 60 Tratado 4:200065048	0.46	2.04	1.71	0.83	8.01	0.63	1.12	1.62	0.33	1.37	2.45
CIA Día 60 Tratado 5:200065049	0.51	1.66	1.50	0.60	6.46	0.64	1.32	0.90	0.37	1.22	2.18
CIA Día 60 Tratado 6:200065050	0.53	2.45	2.29	0.85	8.93	0.96	1.78	2.32	0.30	1.13	2.42

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (>40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDx para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

XXX

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador son reajustados (y marcados). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en esta caso F3, IL1A, IL10, PTX3 y TIMP1).



Tabla 29: Respuestas de la expresión génica del modelo de CIA de sujetos murinos tratados con vehículo o dexametasona el día 60

Nombre de la muestra	ABC1A1_M	APAF1_M	ARG2_M	CASP1_M	CASP3_M	CCR3_M	CD14_M	CD19_M	CD3Z_M	CD85_M	CD8A_M	GSPG2_M
CIA día 60 AM Ctr (animales 1-6)	1.21	1.14	2.38	1.06	1.18	1.08	2.21	1.33	1.33	0.99	2.14	2.28
Día60 Vehículo 1:200065039	1.39	1.39	1.51	1.10	1.02	1.93	2.75	1.31	1.14	1.18	1.06	1.78
Día60 Vehículo 2:200065040	2.03	1.60	1.75	1.41	1.86	1.52	3.27	2.71	1.41	2.00	2.35	3.98
Día60 Vehículo 3:200065041	1.92	1.27	0.90	1.33	1.09	3.71	1.86	2.06	0.96	1.30	1.55	1.21
Día60 Vehículo 4:200065042	1.43	1.42	2.03	1.32	1.15	3.77	1.78	1.80	0.75	1.47	1.32	1.86
Día60 Vehículo 5:200065043	1.34	1.02	1.32	1.07	1.63	2.19	2.12	1.43	0.60	0.88	0.84	1.67
Día60 Vehículo 6:200065044	0.56	1.43	3.11	1.43	1.52	0.80	3.67	0.41	0.57	0.80	1.20	4.22
Día60 Tratado 1:200065045	0.92	2.03	4.34	1.70	2.39	2.72	5.09	0.54	0.83	1.74	2.70	7.77
Día60 Tratado 2:200065046	0.61	1.10	2.76	1.07	2.14	0.50	3.86	0.51	0.59	0.81	1.05	2.08
Día60 Tratado 3:200065047	0.61	1.37	3.01	0.73	1.27	0.77	5.10	0.40	0.40	0.85	0.66	3.47
Día60 Tratado 4:200065048	0.44	1.05	1.80	0.77	1.81	0.41	3.64	0.39	0.52	0.86	1.34	2.47
Día60 Tratado 5:200065049	0.84	1.59	5.81	1.61	2.20	1.55	4.82	0.59	0.46	0.88	0.95	7.22
Día60 Tratado 6:200065050												
Nombre de la muestra	F3_M	HMOX1_M	HSPATA1_M	ICAM1_M	IFI16_M	IL1B1_M	IL1R2_M	IL1RAP_M	IL1RN_M	IL6_M	JUN_M	MEF2C_M
CIA día 60 AM Ctr (animales 1-6)	1.26	1.84	1.03	0.80	1.94	1.54	1.88	1.86	1.47	1.47	0.94	0.90
Día60 Vehículo 1:200065039	1.07	1.63	0.81	0.87	1.56	1.61	1.23	1.23	0.60	0.60	0.86	1.38
Día60 Vehículo 2:200065040	1.55	1.36	1.39	0.97	1.36	1.26	0.98	0.98	1.40	1.41	1.62	1.82
Día60 Vehículo 3:200065041	0.57	1.24	1.17	0.97	1.00	0.64	0.65	1.27	1.00	1.21	1.82	1.82
Día60 Vehículo 4:200065042	1.64	1.64	1.44	1.31	1.34	1.22	1.03	1.03	2.33	2.33	1.35	1.40
Día60 Vehículo 5:200065043	1.54	1.00	1.12	0.83	1.68	1.12	0.61	0.61	1.20	1.27	0.98	1.57
Día60 Vehículo 6:200065044	1.88	4.34	1.41	0.87	3.14	3.93	2.19	2.85	0.54	1.15	1.15	0.47
Día30 Tratado 1:200065045	2.46	2.95	1.47	1.18	3.14	3.83	1.82	1.82	3.01	1.09	1.36	0.60
Día30 Tratado 2:200065046	6.93	2.22	4.85	0.90	2.77	3.49	2.26	2.47	0.68	0.68	1.32	0.49
Día30 Tratado 3:200065047	1.58	3.29	1.05	0.48	3.31	2.75	2.01	2.01	2.36	0.41	1.71	0.38
Día30 Tratado 4:200065048	1.73	3.88	1.05	2.93	2.73	2.93	1.97	1.97	2.53	0.52	1.31	0.43
Día60 Tratado 5:200065049	2.75	5.92	1.67	1.28	4.35	4.56	3.30	3.30	5.48	2.98	1.12	0.47
Día60 Tratado 6:200065050												
Nombre de la muestra	MMP9_M	NFKB1_M	PADI4_M	PLA2GT1_M	PTPRC_M	SERPINE1_M	TGFB1_M	TLR2_M	TLR4_M	TNFSF5_M	TNF_M	VEGF_M
CIA día 60 AM Ctr (animales 1-6)	1.45	0.91	2.01	1.11	0.87	0.33	1.08	2.07	1.18	0.62	0.64	1.76
Día60 Vehículo 1:200065039	2.20	1.60	2.82	1.48	1.53	0.51	1.15	2.10	1.37	1.00	0.79	2.88
Día60 Vehículo 2:200065040	1.77	1.55	1.99	0.99	1.64	2.02	1.33	1.43	1.08	0.94	1.17	1.52
Día60 Vehículo 3:200065041	1.93	1.89	2.68	1.78	1.18	2.66	1.35	2.16	1.09	0.75	0.73	2.50
Día60 Vehículo 4:200065042	2.04	1.29	2.19	1.32	1.17	1.53	1.21	1.85	1.17	0.67	0.96	2.24
Día60 Vehículo 5:200065043	4.26	0.71	2.84	2.24	0.92	9.60	0.84	2.89	1.87	0.31	0.87	4.18
Día60 Vehículo 6:200065044	4.17	0.88	3.51	3.04	1.09	8.38	0.98	2.64	1.62	0.45	2.10	3.11
Día60 Tratado 1:200065045	4.17	0.95	4.32	2.27	0.85	6.77	0.96	2.26	1.74	0.28	1.01	3.92
Día60 Tratado 2:200065046	4.43	0.60	4.93	2.25	1.03	9.29	0.75	1.98	2.05	0.27	1.21	4.98
Día60 Tratado 3:200065047	3.95	0.67	4.00	1.98	0.75	7.45	0.76	2.33	1.13	0.31	1.08	4.44
Día60 Tratado 4:200065048	4.00	0.70	5.92	3.01	1.06	10.36	1.15	3.15	2.93	0.25	1.00	4.92
Día60 Tratado 5:200065049												
Día60 Tratado 6:200065050												

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (6-40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDx para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador son reajustados (y marcados). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en este caso IL1A, IL10, PTX3 y TIMP1. F3 está en la tabla pero no en la gráfica).

XXX



Tabla 30: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de KRN a la dexametasona los días 7, 14 y 21 con respecto a las respuestas medias respectivas de sujetos murinos tratados con vehículo los días 7, 14 y 21

Nombre de la muestra	ABCA1_M	APAF1_M	ARS2_M	CASP1_M	CASP3_M	CCR3_M	CD14_M	CD19_M	CD32_M	CD86_M	CD8A_M	CSPG2_M
KRN media Día respectivo Vehículo (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
KRN Día 7 Dex 1:200065192	1.06	1.82	5.27	3.16	2.05	2.81	3.35	0.95	0.86	1.52	1.12	1.62
KRN Día 7 Dex 2:200065193	3.37	3.07	5.16	6.49	2.05	1.95	8.75	2.34	1.70	5.09	1.50	5.68
KRN Día 7 Dex 3:200065194	1.32	1.70	4.42	2.36	1.93	2.55	3.62	1.28	0.76	1.35	0.94	1.47
KRN Día 7 Dex 4:200065199	2.58	3.29	9.35	4.11	2.04	1.65	8.24	1.96	1.22	2.76	1.57	4.50
KRN Día 7 Dex 5:200065200	1.04	1.62	4.21	2.23	1.17	1.55	2.32	0.83	0.78	1.96	1.02	1.97
KRN Día 7 Dex 6:200065201	1.76	2.17	7.67	2.86	1.51	1.03	4.41	1.76	0.62	3.05	1.02	3.03
KRN Día 14 Dex 1:200065208	1.09	1.10	3.83	1.59	1.22	1.10	4.79	0.61	0.70	0.91	0.59	2.17
KRN Día 14 Dex 2:200065209	1.25	1.10	2.63	1.74	1.55	2.56	3.30	0.88	0.65	1.23	0.97	3.26
KRN Día 14 Dex 3:200065210	1.57	1.23	4.54	1.60	1.31	1.38	3.55	0.88	0.72	1.17	0.93	5.38
KRN Día 14 Dex 4:200065211	1.43	1.69	5.08	1.44	2.15	2.38	2.91	1.17	0.90	1.96	1.13	2.10
KRN Día 14 Dex 5:200065212	0.71	1.46	2.89	1.36	1.27	0.86	4.36	0.44	0.38	0.94	0.43	8.38
KRN Día 14 Dex 6:200065213	1.17	1.40	3.48	1.70	1.16	0.94	2.78	0.84	1.06	0.96	1.04	4.43
KRN Día 21 Dex 1:200065220	0.88	2.15	4.45	2.43	2.10	1.16	5.48	0.47	1.01	1.10	1.11	18.27
KRN Día 21 Dex 2:200065221	1.03	1.97	3.52	1.94	1.70	1.25	2.76	0.65	0.96	1.34	0.89	3.57
KRN Día 21 Dex 3:200065222	1.70	2.07	4.12	2.06	2.06	1.79	4.35	1.28	1.14	1.32	1.41	5.47
KRN Día 21 Dex 4:200065169	1.18	1.48	4.56	2.53	2.40	1.44	6.12	0.82	0.80	1.01	1.12	14.87
KRN Día 21 Dex 5:200065170	1.65	2.64	2.65	2.17	1.70	0.96	4.81	1.16	1.23	1.85	1.77	9.02
KRN Día 21 Dex 6:200065171	1.33	1.91	4.72	2.48	1.60	1.35	6.40	0.59	0.77	0.94	1.02	24.31

Nombre de la muestra	F3_M	HMOX1_M	HSPA1A_M	IF16_M	IL1B_M	IL1R2_M	IL1RAP_M	IL1RN_M	JUN_M	MEF2C_M	MMP9_M
KRN media Día respectivo Vehículo (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
KRN Día 7 Dex 1:200065192	3.52	3.20	2.04	1.74	9.95	8.86	4.96	6.77	4.82	1.19	3.83
KRN Día 7 Dex 2:200065193	0.87	6.06	2.22	3.25	12.98	12.40	5.39	4.91	5.62	3.04	3.04
KRN Día 7 Dex 3:200065194	0.87	2.13	1.67	1.45	10.57	6.06	4.42	5.36	3.45	1.13	1.13
KRN Día 7 Dex 4:200065199	7.26	7.83	2.27	2.83	18.50	17.23	7.16	9.15	5.93	1.80	1.80
KRN Día 7 Dex 5:200065200	6.06	1.82	1.05	1.75	10.02	10.14	3.46	4.75	2.18	1.25	1.25
KRN Día 7 Dex 6:200065201	4.56	2.92	2.72	2.68	18.85	11.98	5.51	7.21	4.06	1.40	1.40
KRN Día 14 Dex 1:200065208	1.63	3.19	2.13	1.30	3.75	6.28	3.75	2.60	3.49	0.56	0.56
KRN Día 14 Dex 2:200065209	5.71	2.43	1.26	1.57	3.32	4.08	2.64	2.29	3.24	0.87	0.87
KRN Día 14 Dex 3:200065210	6.53	3.22	1.54	1.48	4.06	6.13	3.79	2.42	3.49	0.51	0.51
KRN Día 14 Dex 4:200065211	6.53	2.66	1.97	1.87	4.64	6.32	4.82	2.80	4.67	0.95	0.95
KRN Día 14 Dex 5:200065212	4.79	2.29	2.99	1.05	3.90	5.49	3.52	2.57	3.96	0.46	0.46
KRN Día 14 Dex 6:200065213	0.42	1.62	2.03	1.60	3.33	4.94	3.01	2.94	3.72	0.88	0.88
KRN Día 21 Dex 1:200065220	1.07	4.55	5.86	2.81	6.21	10.72	3.42	3.52	4.61	0.54	0.54
KRN Día 21 Dex 2:200065221	0.21	0.42	1.22	1.88	4.65	6.26	3.53	2.53	3.50	0.54	0.54
KRN Día 21 Dex 3:200065222	2.59	2.60	4.78	2.52	4.80	6.81	3.99	3.80	3.50	1.09	1.09
KRN Día 21 Dex 4:200065169	1.23	3.32	4.69	2.37	3.66	6.93	2.96	3.54	3.31	0.44	0.44
KRN Día 21 Dex 5:200065170	2.59	4.31	2.43	2.12	3.96	5.45	3.68	2.48	5.81	0.98	0.98
KRN Día 21 Dex 6:200065171	1.23	4.62	2.17	2.02	5.72	7.16	3.89	3.08	6.68	0.83	0.83

Tabla 30 continuación: Respuestas de la expresión génica en sujetos murinos individuales del modelo de KRN a la dexametasona los días 7, 14 y 21 con respecto a las respuestas medias respectivas de sujetos murinos tratados con vehículo los días 7, 14 y 21

Nombre de la muestra	NFKB1 M	PADI4 M	PLAZG7 M	PTPRC M	SERPINE1 M	TGFBI M	TLR2 M	TLR4 M	TNFSF5 M	TNF M	VEGF M
KRN media Día respectivo Vehículo (animales 1-6)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
KRN Día 7 Dex 1:200065192	1.55	1.75	4.22	1.30	5.74	1.25	3.36	4.48	0.64	1.91	2.71
KRN Día 7 Dex 2:200065193	3.39	1.71	6.35	2.28	7.82	2.54	7.75	5.14	1.62	3.76	1.85
KRN Día 7 Dex 3:200065194	1.36	1.39	3.24	1.29	4.92	1.17	2.88	2.78	0.81	1.12	2.61
KRN Día 7 Dex 4:200065199	2.39	3.08	6.59	1.97	7.61	1.93	7.19	7.79	1.13	2.05	4.88
KRN Día 7 Dex 5:200065200	1.12	1.54	2.81	1.04	4.44	1.15	2.45	2.97	0.64	1.54	2.24
KRN Día 7 Dex 6:200065201	1.44	2.22	3.74	1.33	4.87	1.46	4.98	3.57	0.60	1.75	3.09
KRN Día 14 Dex 1:200065208	0.97	3.32	1.75	0.97	8.49	0.90	3.33	3.08	0.99	0.85	3.05
KRN Día 14 Dex 2:200065209	1.16	3.22	1.78	1.12	8.71	1.15	3.85	3.42	0.74	1.34	3.04
KRN Día 14 Dex 3:200065210	1.02	3.15	2.12	1.06	8.58	1.06	4.10	4.07	0.79	1.62	8.13
KRN Día 14 Dex 4:200065211	1.48	4.24	2.28	1.30	7.50	1.16	3.65	4.05	1.20	1.11	4.08
KRN Día 14 Dex 5:200065212	0.73	2.81	1.74	0.77	3.80	0.80	2.82	2.79	0.42	0.80	5.18
KRN Día 14 Dex 6:200065213	0.97	2.72	1.70	0.89	4.59	0.94	3.98	2.41	0.92	0.71	2.57
KRN Día 21 Dex 1:200065220	1.16	4.56	4.32	1.54	9.96	1.39	5.82	3.41	1.05	2.35	2.77
KRN Día 21 Dex 2:200065221	0.89	7.11	3.20	1.32	8.55	1.04	3.11	2.66	1.21	2.37	1.26
KRN Día 21 Dex 3:200065222	1.62	3.54	4.11	1.69	7.45	1.24	3.91	2.83	1.46	3.65	2.71
KRN Día 21 Dex 4:200065169	0.80	4.66	3.27	1.00	7.29	1.12	4.35	3.16	0.95	2.26	1.56
KRN Día 21 Dex 5:200065170	1.59	4.17	2.88	1.44	3.79	1.17	4.46	3.02	1.34	3.37	3.16
KRN Día 21 Dex 6:200065171	1.40	5.65	4.72	1.84	11.58	1.60	7.09	5.82	1.10	2.82	1.26

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (>40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDx para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

XXX

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador son reajustados (y marcados). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en este caso IL1A, IL16, IL10, PTX3 y TIMP1).



Tabla 31: Respuestas de la expresión génica del modelo de KRN de sujetos murinos tratados con vehículo o dexametasona el día 21

Nombre de la muestra	ABCA1 M	APAF1 M	ARG2 M	CASPI1 M	CASP3 M	CCR3 M	CD14 M	CD19 M	CD32 M	CD86 M	CD8A M	CSPG2 M
KRN media Día 21 s.t.p. (animales 1-6)												
N Día 21 Vehículo 1:200065214	0.73	0.65	0.92	0.44	0.70	0.97	1.02	0.82	0.92	0.81	0.80	
N Día 21 Vehículo 2:200065215	0.80	0.66	0.83	0.57	0.83	2.08	0.47	0.84	0.97	0.86	1.19	
N Día 21 Vehículo 3:200065216	0.86	0.58	0.59	0.57	0.85	0.75	0.21	0.75	0.76	0.56	0.97	
N Día 21 Vehículo 4:200065217	0.50	0.50	0.53	0.51	0.87	0.97	0.61	0.46	0.56	0.38	0.59	
N Día 21 Vehículo 5:200065218	1.34	1.47	1.35	0.92	1.16	1.65	1.38	0.70	1.47	1.14	1.43	
N Día 21 Vehículo 6:200065219	0.42	0.46	0.70	0.52	0.46	0.75	0.67	0.39	0.60	0.52	0.60	
N Día 21 Dex 1:200065220	0.63	1.42	3.47	1.39	1.66	1.28	3.40	0.30	0.84	0.73	0.88	14.33
N Día 21 Dex 2:200065221	0.75	1.31	2.75	1.38	1.51	1.38	1.72	0.41	0.79	0.89	0.78	2.80
N Día 21 Dex 3:200065222	1.23	1.37	3.21	1.18	1.83	1.97	2.70	0.81	0.95	0.88	1.24	4.29
N Día 21 Dex 4:200065169	0.85	0.98	3.87	1.45	2.13	1.59	3.80	0.52	0.66	0.87	0.99	11.67
N Día 21 Dex 5:200065170	1.19	1.19	2.22	1.24	1.50	1.06	2.99	0.74	1.02	1.23	1.56	7.08
N Día 21 Dex 6:200065171	0.96	1.26	3.68	1.42	1.42	1.49	3.98	0.38	0.84	0.63	0.90	19.08
KRN media Día 21 s.t.p. (animales 1-6)												
N Día 21 Vehículo 1:200065214	4.37	1.14	0.30	0.75	0.74	0.80	0.88	0.96	0.78	0.33	0.39	0.94
N Día 21 Vehículo 2:200065215	3.36	0.83	0.51	0.59	0.84	0.61	0.50	0.91	0.81	0.35	0.50	0.50
N Día 21 Vehículo 3:200065216	0.78	0.78	0.73	0.64	0.72	0.49	0.53	0.82	0.68	0.51	0.56	0.63
N Día 21 Vehículo 4:200065217	2.34	0.70	0.39	0.40	0.49	0.57	0.41	0.41	0.37	0.40	0.44	0.51
N Día 21 Vehículo 5:200065218	4.47	0.98	1.57	0.94	0.92	1.19	0.93	0.97	1.14	1.27	0.70	0.89
N Día 21 Vehículo 6:200065219	0.74	0.69	3.95	0.44	0.47	0.50	0.40	0.57	0.77	0.57	0.57	0.89
N Día 21 Dex 1:200065220	8.03	3.83	3.89	1.69	1.07	4.09	6.24	2.82	2.88	2.51	0.28	0.89
N Día 21 Dex 2:200065221	0.79	2.19	3.17	1.13	0.79	3.06	3.65	2.61	1.85	0.28	0.28	3.34
N Día 21 Dex 3:200065222	2.01	2.19	3.17	1.52	0.94	3.15	3.97	2.95	2.78	1.90	0.55	2.31
N Día 21 Dex 4:200065169	0.74	2.79	3.11	1.42	0.52	2.41	4.04	2.19	2.60	1.80	0.22	2.14
N Día 21 Dex 5:200065170	4.85	3.62	1.61	1.28	1.03	2.60	3.17	2.72	1.82	3.16	0.50	2.61
N Día 21 Dex 6:200065171	2.31	3.89	1.44	1.22	0.77	3.76	4.17	2.88	2.28	3.63	0.43	3.19
KRN media Día 21 s.t.p. (animales 1-6)												
N Día 21 Vehículo 1:200065214	0.83	0.36	0.71	0.60	0.68	0.61	0.89	0.89	0.68	0.51	0.54	1.99
N Día 21 Vehículo 2:200065215	0.80	0.83	0.73	0.81	0.68	1.07	2.18	0.66	0.74	0.61	0.74	2.97
N Día 21 Vehículo 3:200065216	0.84	0.61	0.66	0.75	0.66	0.87	0.63	0.63	0.58	0.88	0.88	0.88
N Día 21 Vehículo 4:200065217	0.51	0.57	0.48	0.46	0.89	0.84	0.64	0.84	0.32	0.42	0.30	0.49
N Día 21 Vehículo 5:200065218	0.87	0.91	1.76	1.00	1.09	1.20	1.01	1.01	1.13	1.03	0.73	2.62
N Día 21 Vehículo 6:200065219	0.47	0.67	0.61	0.50	0.30	0.72	0.72	0.55	0.79	0.71	0.31	0.85
N Día 21 Dex 1:200065220	0.71	2.88	3.05	1.02	6.64	1.14	4.14	4.14	2.27	0.66	1.26	3.70
N Día 21 Dex 2:200065221	0.59	4.49	2.26	0.87	5.70	0.86	2.21	1.76	1.76	0.76	1.27	1.69
N Día 21 Dex 3:200065222	1.08	2.23	2.91	1.12	4.66	1.02	2.78	2.78	1.88	0.91	1.96	3.63
N Día 21 Dex 4:200065169	0.53	2.94	2.31	0.66	4.86	0.96	3.10	3.10	2.91	0.59	1.21	2.08
N Día 21 Dex 5:200065170	1.06	2.63	2.04	0.95	2.52	0.96	3.17	3.17	2.91	0.84	1.80	4.22
N Día 21 Dex 6:200065171	0.94	3.57	3.33	1.22	7.72	1.32	5.04	5.04	3.86	0.69	1.51	1.68

Nota: Las mediciones de FAM del gen diana que están fuera del límite de detección del instrumento (>40 ciclos) se indican como "no determinadas" por el sistema de detección de secuencias ABI PRISM 7900HT. El reajuste del límite de detección (reajustado a 40 y marcado) es el método de Source MDx para abordar las mediciones de expresión génica "no determinadas", como falta de expresión para un gen particular en una variedad de circunstancias y es información valiosa. Los cálculos de expresión relativa usando los valores de FAM del gen diana reajustados también están marcados, indicados en rojo, y deben interpretarse con precaución.

Resultan valores nulos en el nivel de expresión relativo cuando los valores de la muestra y el calibrador son reajustados (y marcados). Si todos los valores de las muestras en un gen diana son nulos, el gen diana no está incluido en la tabla (en esta caso IL1A, IL6, IL10 y PTX3. TIMP1 está incluido en la tabla pero no en la gráfica).

XXX

XXX

REIVINDICACIONES

1.- Un procedimiento para identificar un panel de expresión génica distintivo de roedor para usar en la evaluación de un agente en un estado biológico humano de interés, comprendiendo el método:

5 identificar un panel de expresión génica para seres humanos con respecto al cual los niveles de expresión de los constituyentes son indicativos del estado biológico de interés;

10 evaluar en una población de roedores los genes constituyentes del panel de expresión génica identificado para determinar que constituyentes presentan características análogas a las expresiones génicas en seres humanos cuando se miden en condiciones que son sustancialmente repetibles, y por lo tanto son indicativos del estado biológico de interés tanto en seres humanos como en roedores, en el que un conjunto de constituyentes que se ha determinado que es indicativo constituye el panel distintivo y en el que el panel distintivo consiste en una pluralidad de constituyentes de cualquiera de las tablas 3-9.

2.- Un método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano de interés, basándose en una muestra de un sujeto roedor al que se ha administrado el agente, proporcionando la muestra una fuente de ARN, comprendiendo el método:

15 determinar un panel distintivo para roedores, cuyos constituyentes corresponden a constituyentes de un panel de expresión génica humano y que presentan características análogas a las expresiones génicas en seres humanos cuando se miden en condiciones que son sustancialmente repetibles, y consistiendo el panel distintivo en una pluralidad de constituyentes de cualquiera de las tablas 3-9, en el que la medida de los constituyentes del panel distintivo permite la medida del estado biológico del sujeto roedor, y la medida de los constituyentes del panel humano permite la medida del estado biológico humano;

20 obtener de la muestra de roedor un primer conjunto de datos de perfil que incluye una pluralidad de miembros, siendo cada miembro una medida cuantitativa de la cantidad de un constituyente de ARN distinto en el panel distintivo; y

25 producir un conjunto de datos de perfil calibrado para el panel distintivo, en el que cada miembro del conjunto de datos de perfil calibrado es una función de un miembro correspondiente del primer conjunto de datos de perfil y un miembro correspondiente de un conjunto de datos de perfil de referencia de roedor para el panel distintivo, en el que cada miembro del conjunto de datos de perfil de referencia de roedor es una medida normativa, determinada con respecto a una población de roedores relevante, de la cantidad de uno de los constituyentes del panel distintivo, proporcionando el conjunto de datos de perfil calibrado una evaluación del efecto del agente en el estado biológico humano,

30 en el que las medidas para cada constituyente se llevan a cabo en condiciones de medida que son sustancialmente repetibles.

35 3.- Un método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano de interés según la reivindicación 2, en el que se usa la amplificación para medir la cantidad de ARN de todos los constituyentes del panel distintivo, y las eficacias de la amplificación de todos los constituyentes son sustancialmente similares.

4.- Un método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano de interés según la reivindicación 2, en el que el estado biológico es la artritis.

5.- El método según la reivindicación 4, en el que el estado biológico es la artritis reumatoide.

40 6.- Un método para evaluar el efecto de un agente en un estado biológico humano de interés según la reivindicación 2, en el que el panel distintivo comprende una pluralidad de constituyentes seleccionados del grupo que consiste en CASP3, CD14, CSPG2, HSPA1A, ICAM1, IL1B, IL1RN, MEF2C, MMP9, SERPINE1, TGFB1, y TLR2.

7.- El método según la reivindicación 2, en el que las condiciones de medida son repetibles de modo que la medida para cada constituyente tiene un coeficiente de variación, en la obtención repetida de dicha medida de la muestra, que es menor de aproximadamente 10%.

45 8.- El método según la reivindicación 2, en el que las condiciones de medida son repetibles de modo que la medida para cada constituyente tiene un coeficiente de variación, en la obtención repetida de dicha medida de la muestra, que es menor de aproximadamente 5%.

50 9.- El método según la reivindicación 2, en el que las condiciones de medida son repetibles de modo que la medida para cada constituyente tiene un coeficiente de variación, en la obtención repetida de dicha medida de la muestra, que es menor de aproximadamente 2%.

10.- El método según la reivindicación 3, en el que las eficacias de amplificación, expresadas como un porcentaje, para todos los constituyentes difieren en no más de 10%, preferiblemente en no más de 5%, más preferiblemente en no más de 3%, incluso más preferiblemente en no más de 1%.

11.- Un panel de expresión génica distintivo de roedor que consiste en los constituyentes CASP3, CD14, CSPG2, HSPA1A, ICAM1, IL1B, IL1RN, MEF2C, MMP9, SERPINE1, TGFB1 y TLR2.

12.- Uso de un panel de expresión génica distintivo de roedor que consiste en los constituyentes de cualquiera de las tablas 3-9, en la evaluación del efecto de un agente en un estado biológico humano.

RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS A LAS 1,5 h EN RATONES MACHO SWISS WEBSTER

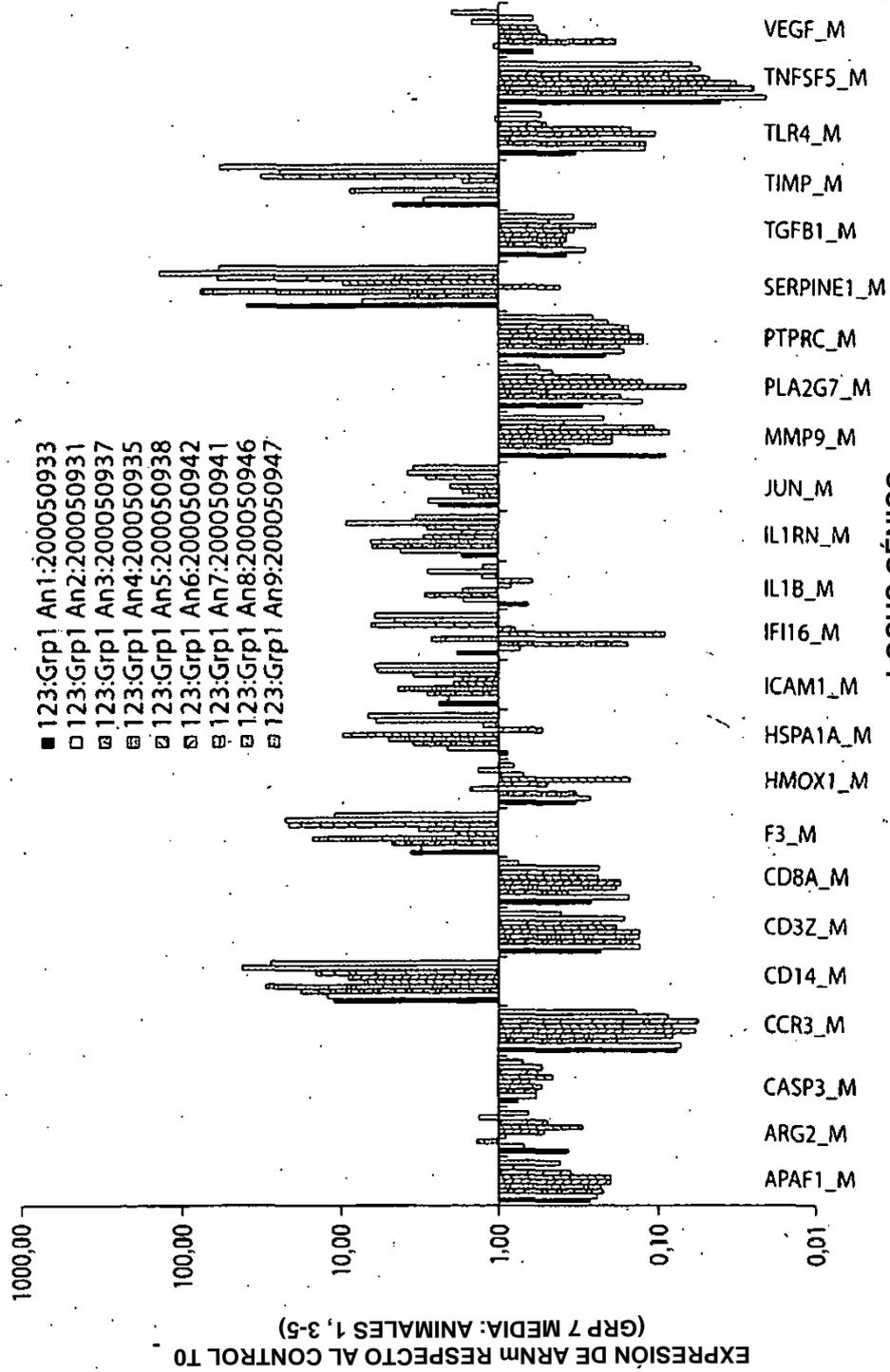


Fig. 1A

LOCUS GÉNICO

RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS A LAS 4 h EN RATONES MACHO SWISS WEBSTER

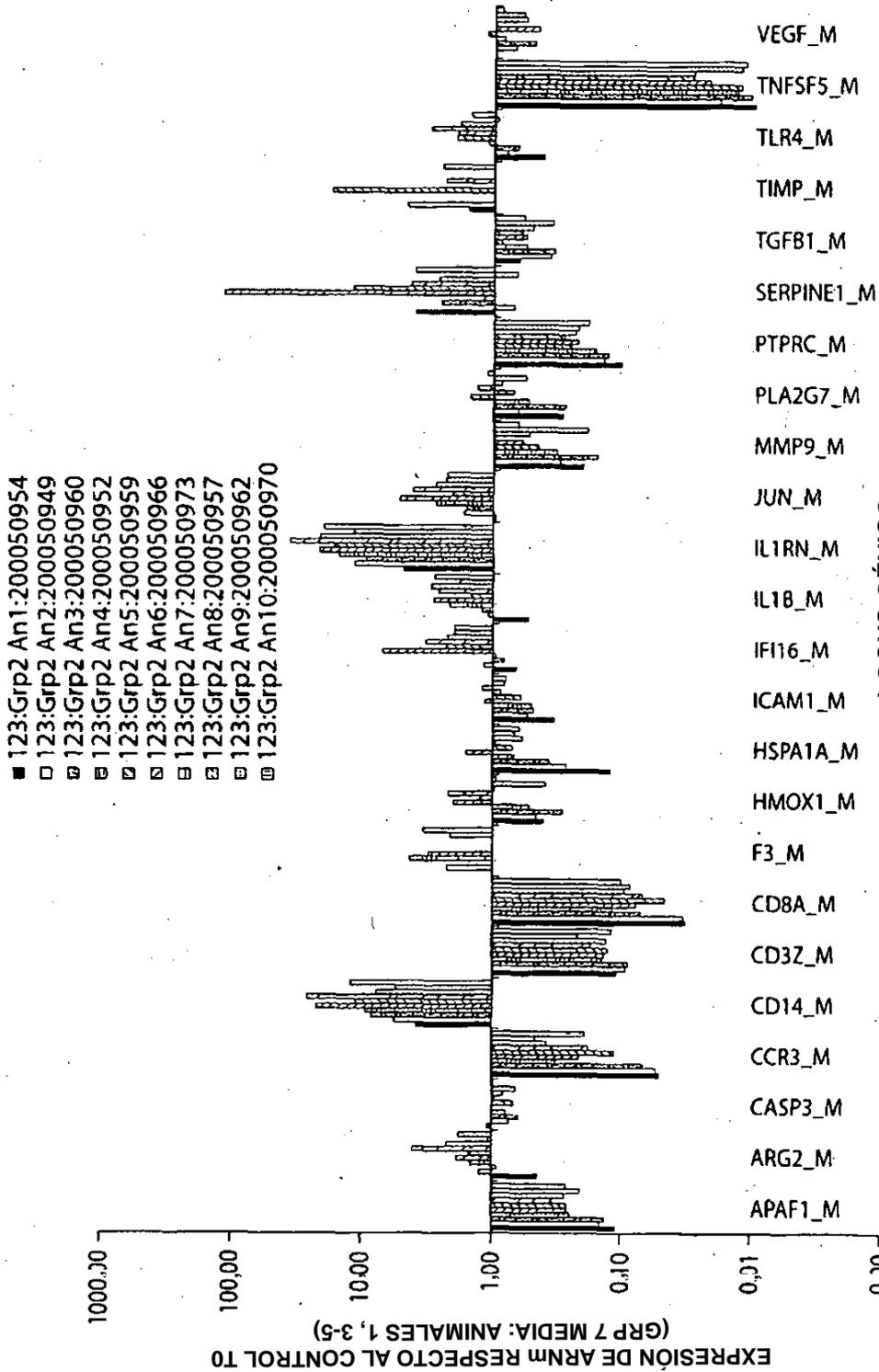


Fig. 1B

LOCUS GÉNICO

RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS A LAS 24 h EN RATONES MACHO SWISS WEBSTER

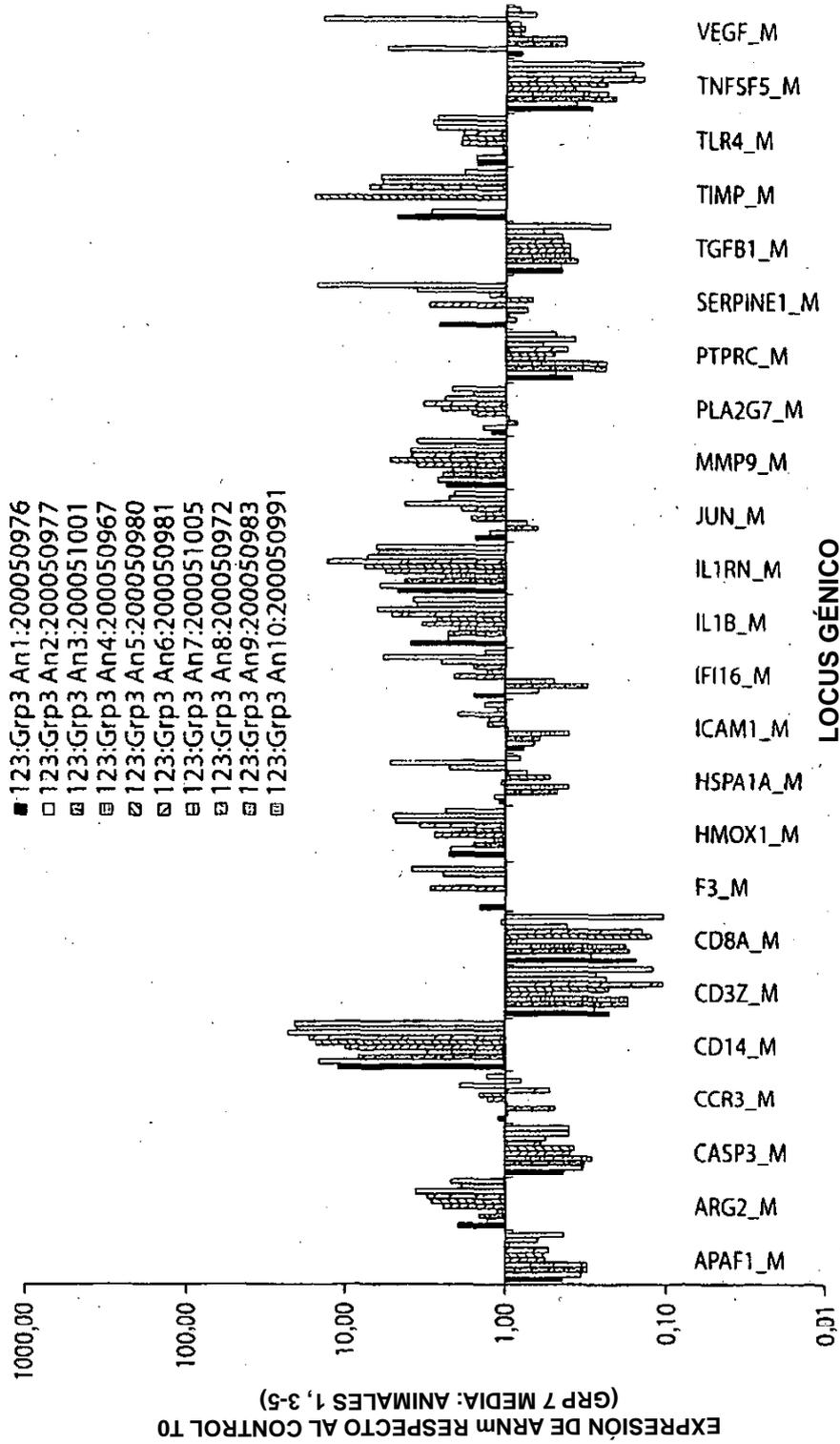


Fig. 1C

RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS + DEXAMETASONA A LAS 1,5 h EN RATONES MACHO SWISS WEBSTER

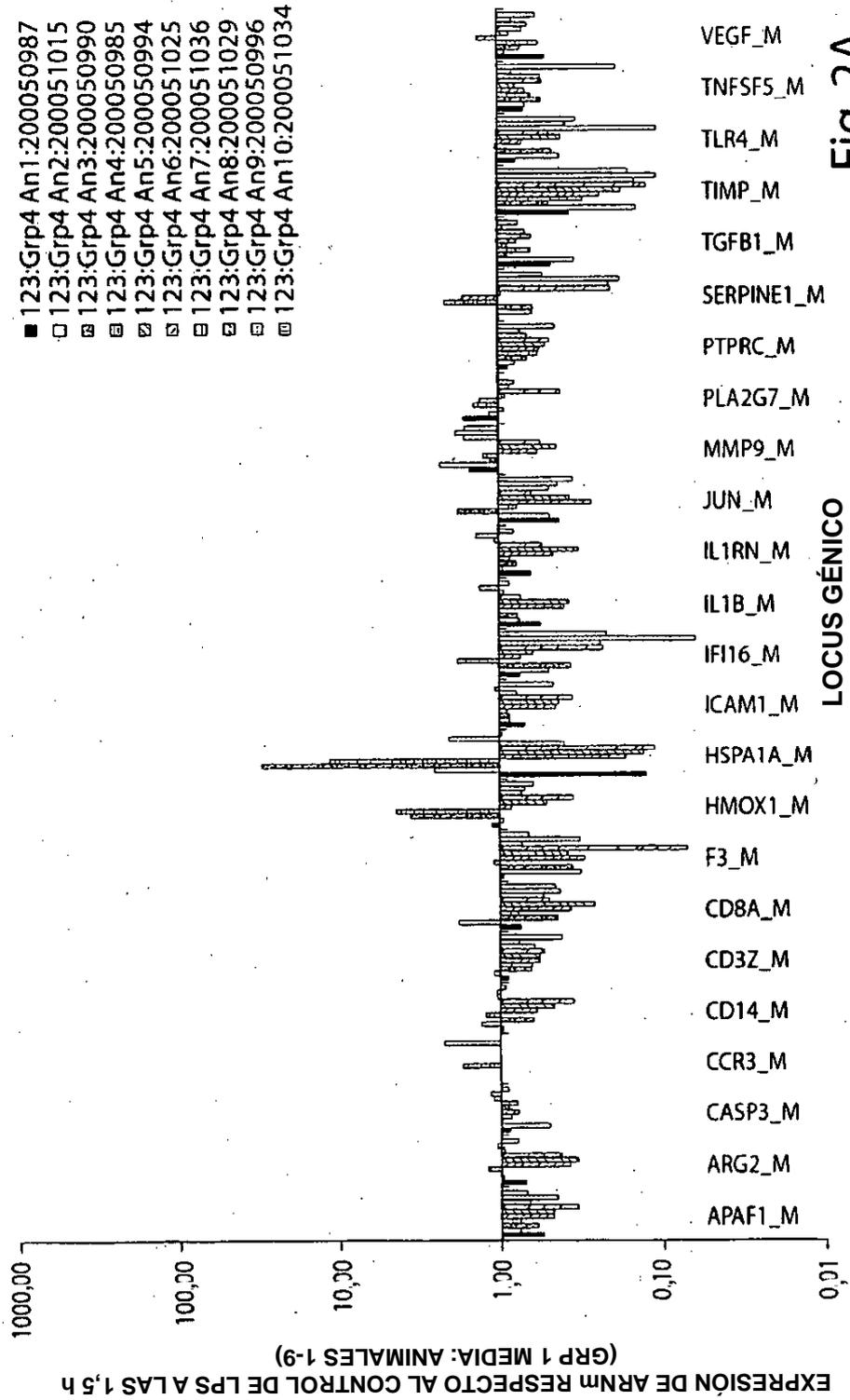


Fig.2A

RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS + DEXAMETASONA A LAS 4 h EN RATONES MACHO SWISS WEBSTER

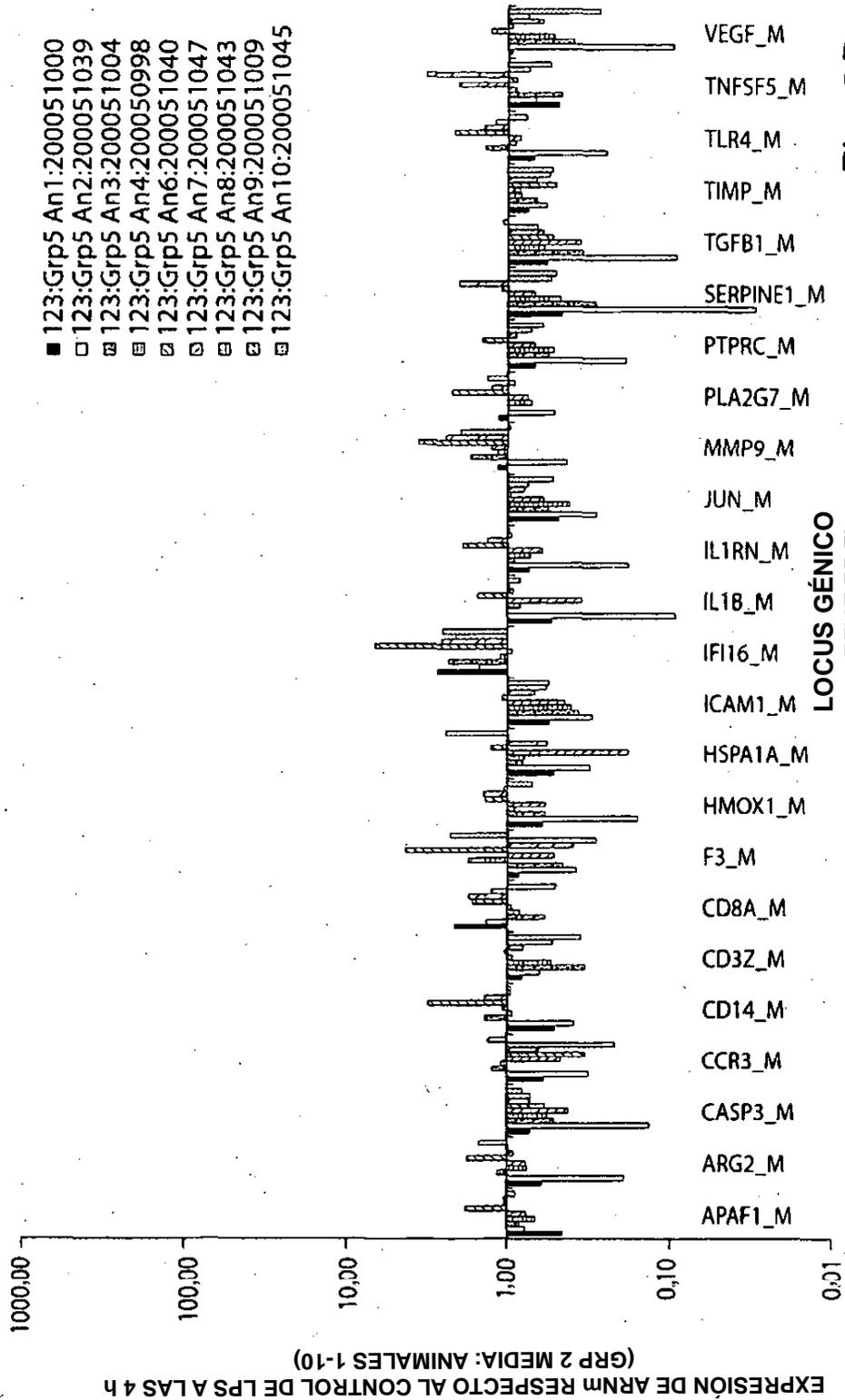


Fig. 2B

RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS + DEXAMETASONA A LAS 24 h EN RATONES MACHO SWISS WEBSTER

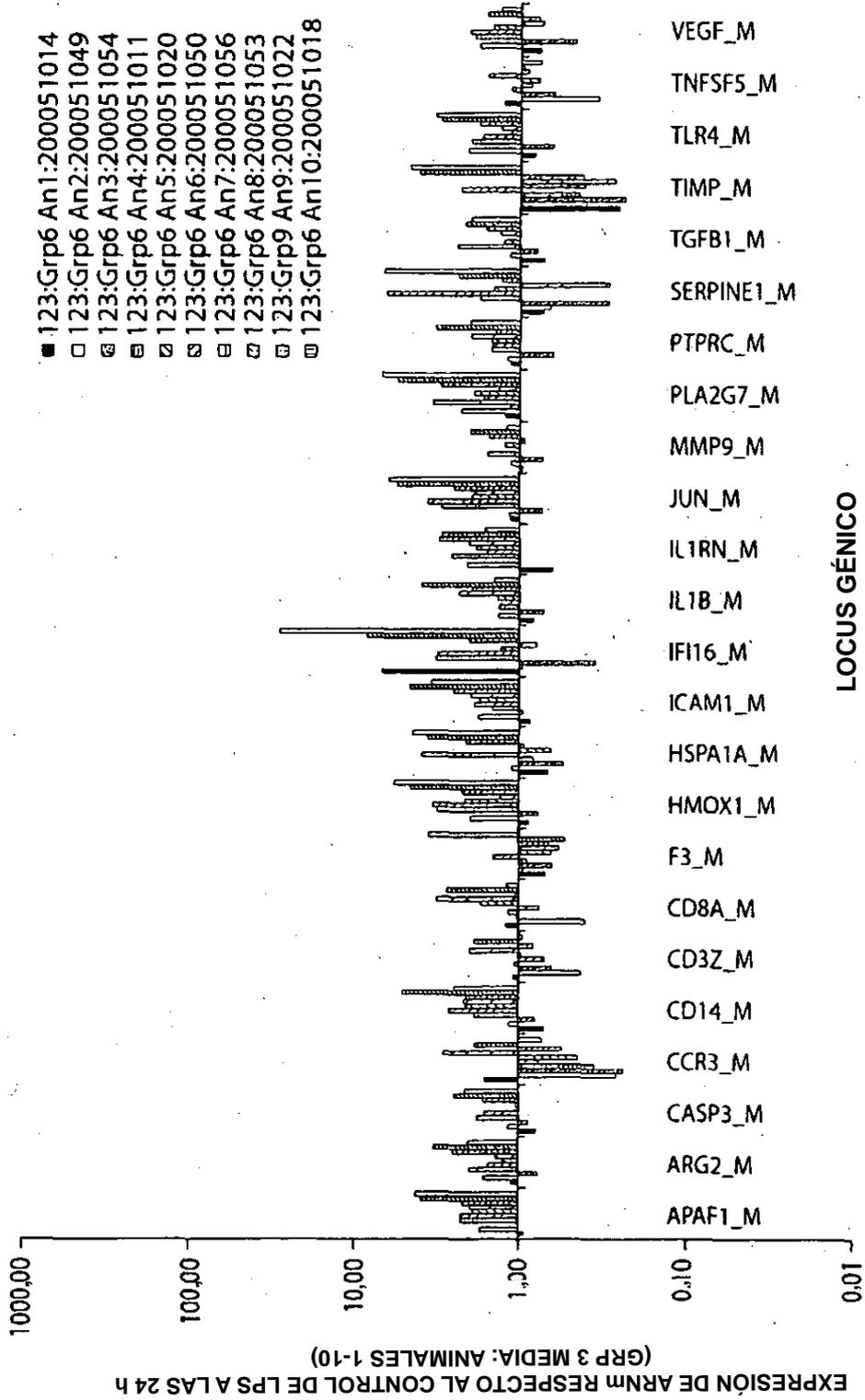


Fig. 2C

RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS A LAS 1,5, 4 Y 24 h EN RATONES MACHO SWISS WEBSTER

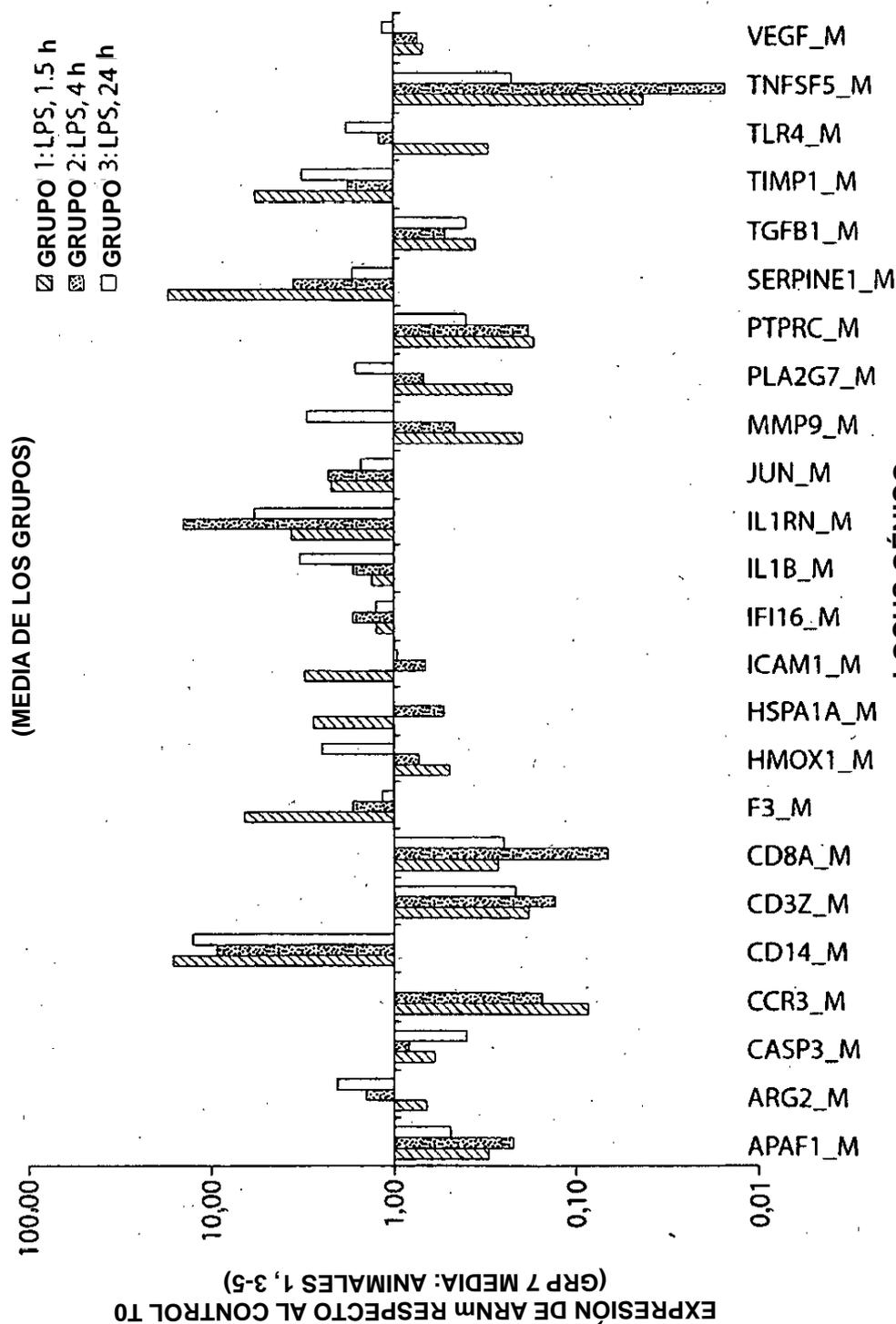
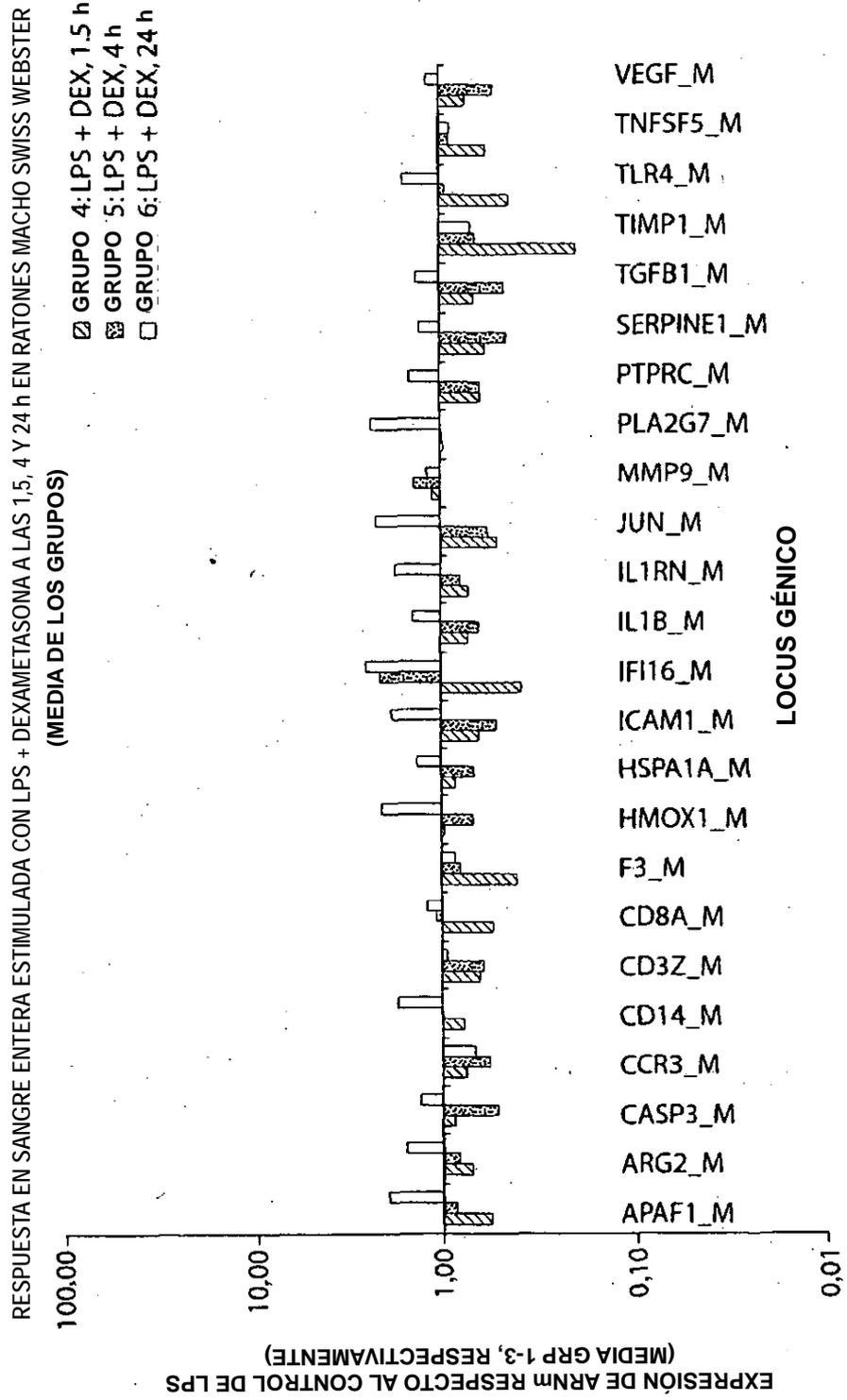


Fig.3



COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS Y MURINOS
IN VIVO A LAS 2 Y 1,5 h, RESPECTIVAMENTE

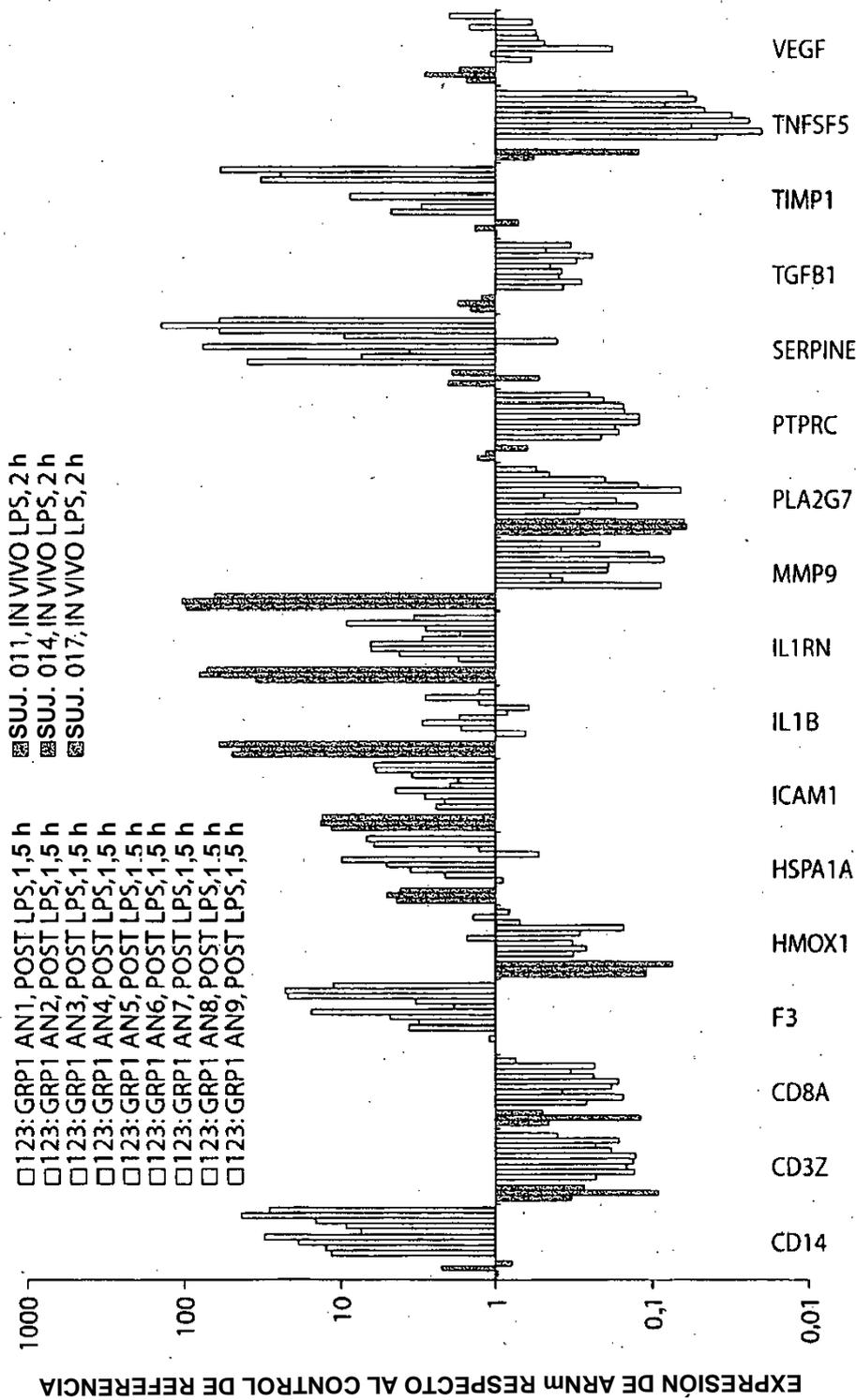


Fig. 5A

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS Y MURINOS
IN VIVO A LAS 5 Y 4 h, RESPECTIVAMENTE

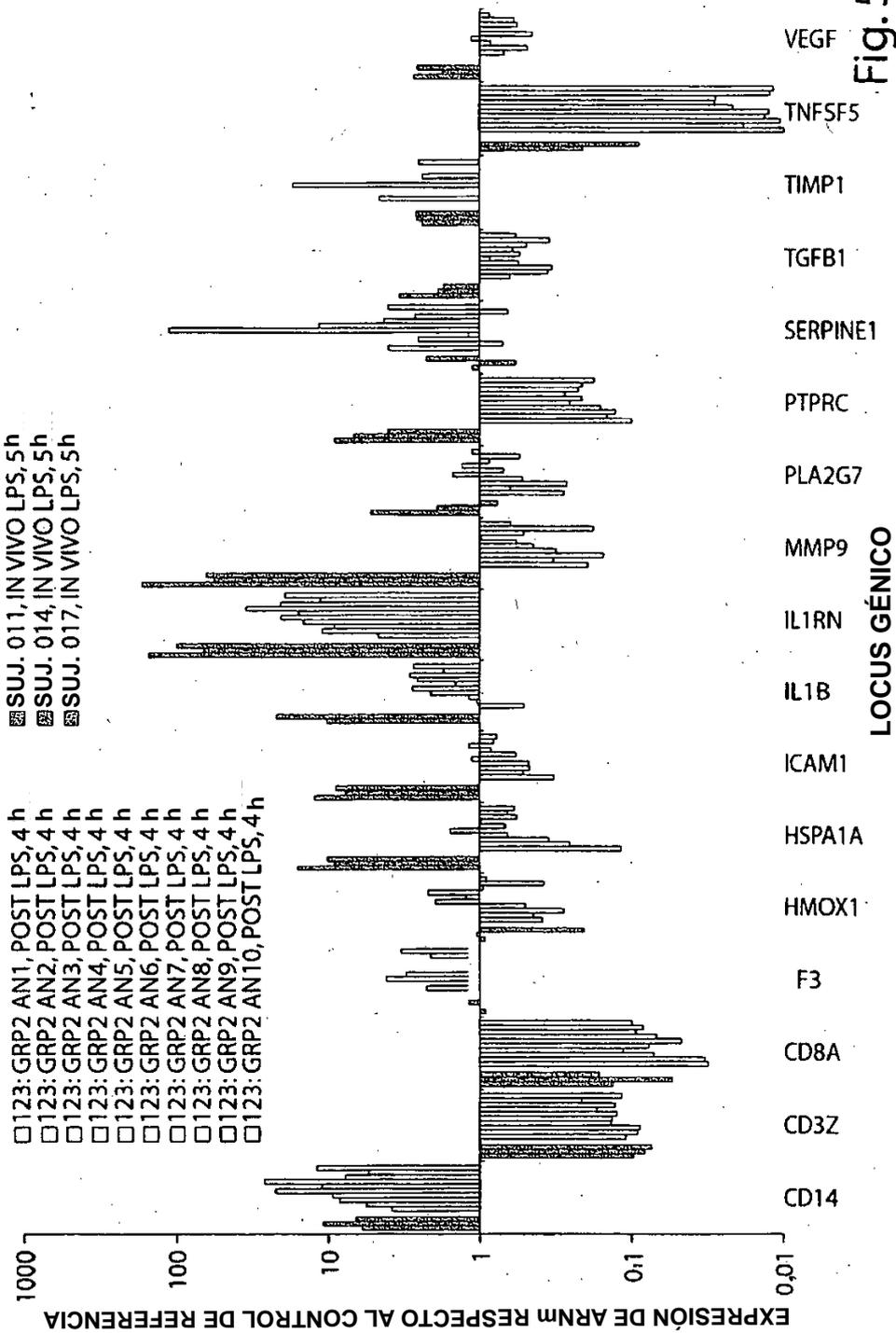


Fig. 5B

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS Y MURINOS
IN VIVO A LAS 21 Y 24 h, RESPECTIVAMENTE

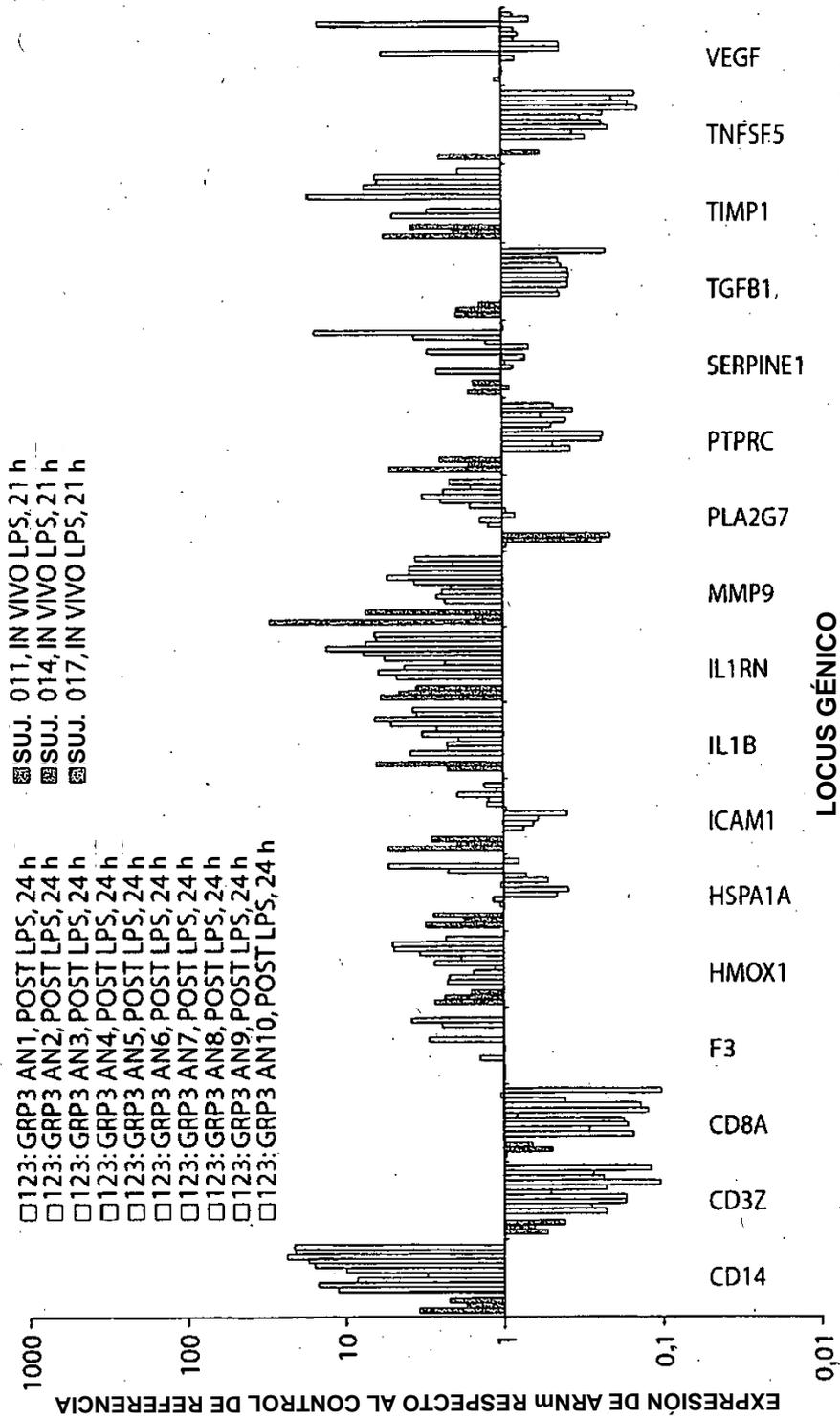


Fig. 5C

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS
IN VIVO E IN VITRO A LAS 2 h

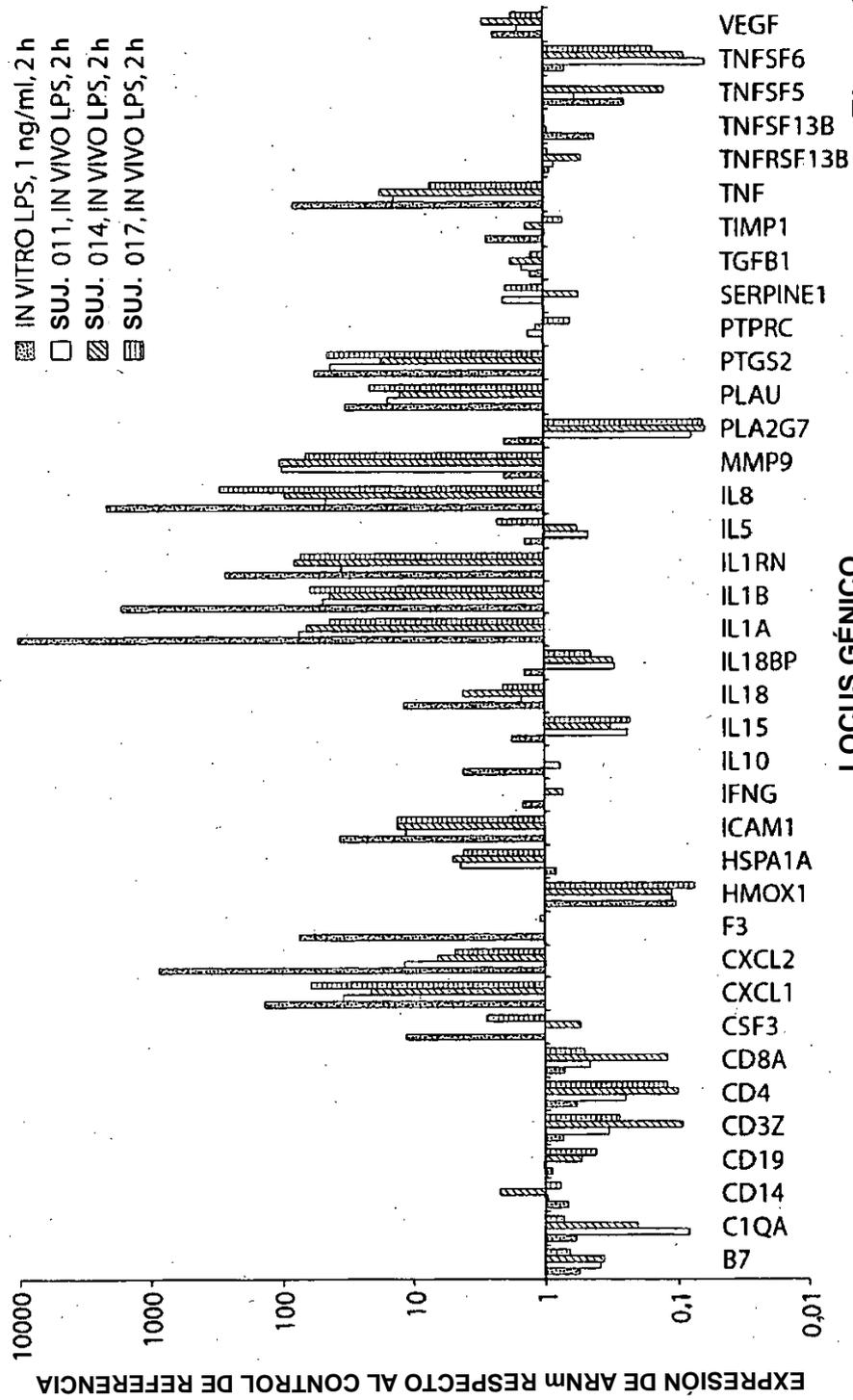


Fig. 6A

LOCUS GÉNICO

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS
IN VIVO E IN VITRO A LAS 5 Y 6 h, RESPECTIVAMENTE

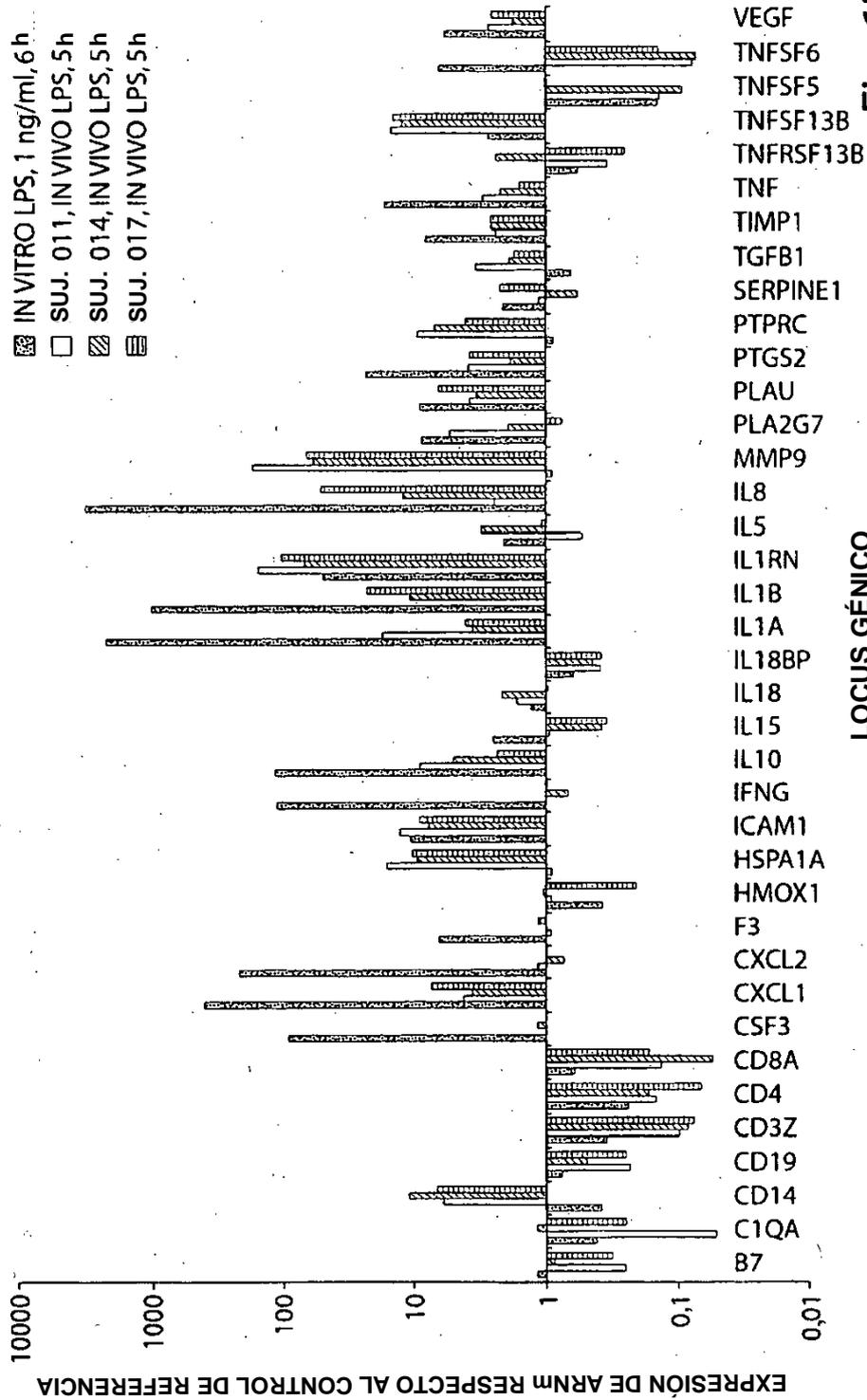
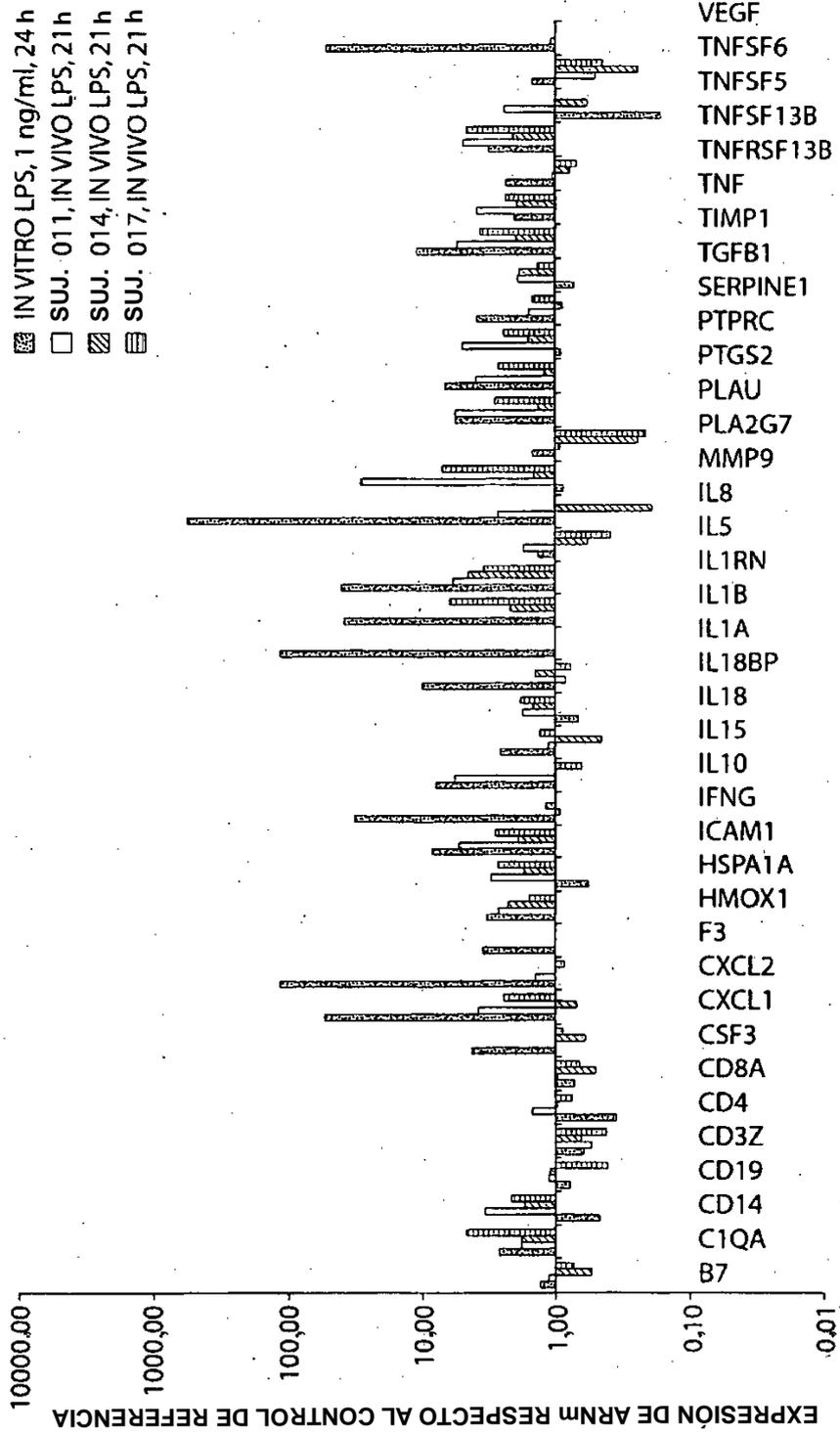


Fig. 6B

LOCUS GÉNICO

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS
IN VIVO E IN VITRO A LAS 24 Y 21 h, RESPECTIVAMENTE



LOCUS GÉNICO **Fig. 6C**

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS (IN VITRO)
Y MURINOS (IN VIVO) A LAS 2 Y 1,5 h, RESPECTIVAMENTE

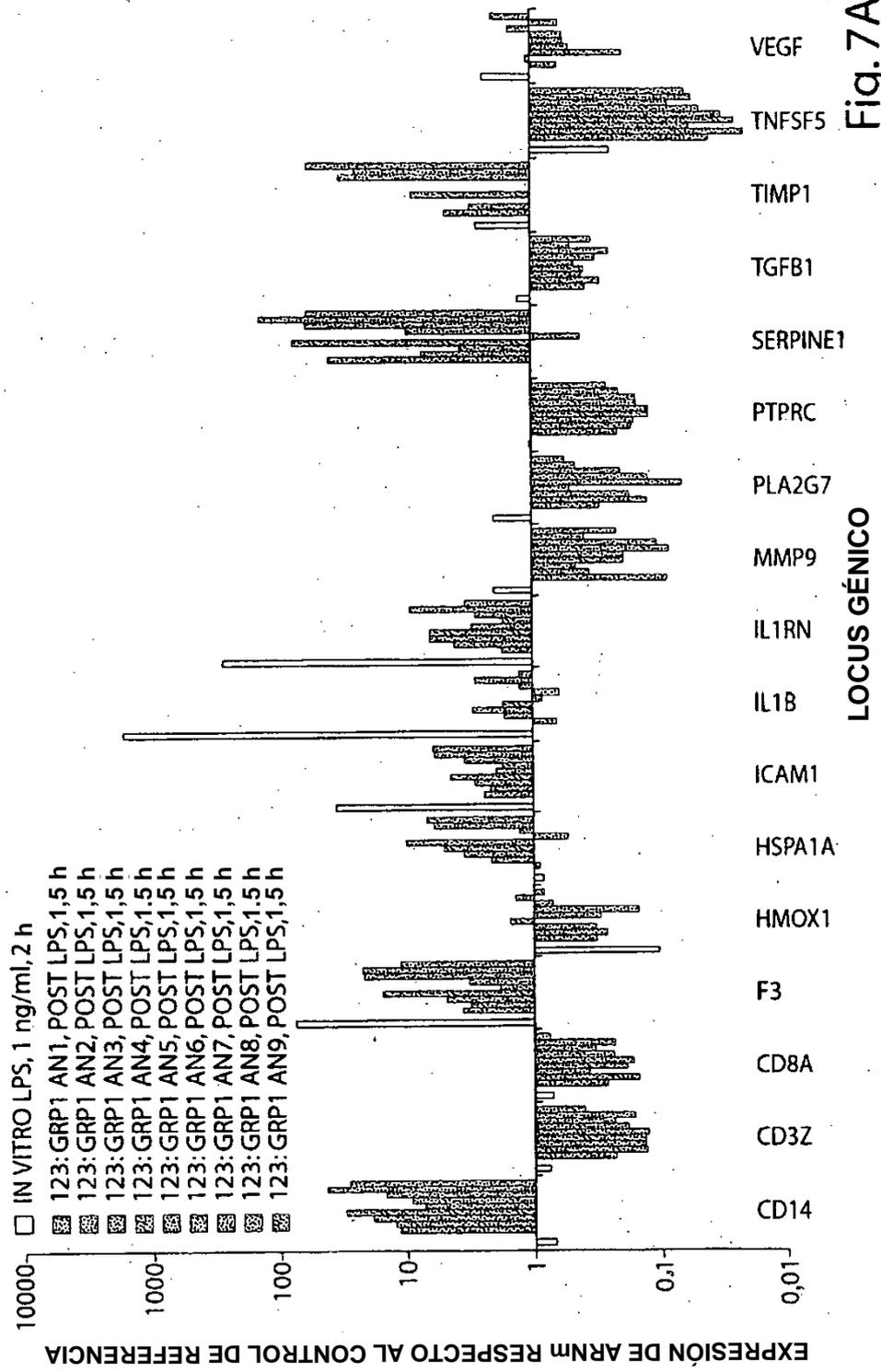


Fig.7A

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS (IN VITRO)
Y MURINOS (IN VIVO) A LAS 6 Y 4 h, RESPECTIVAMENTE

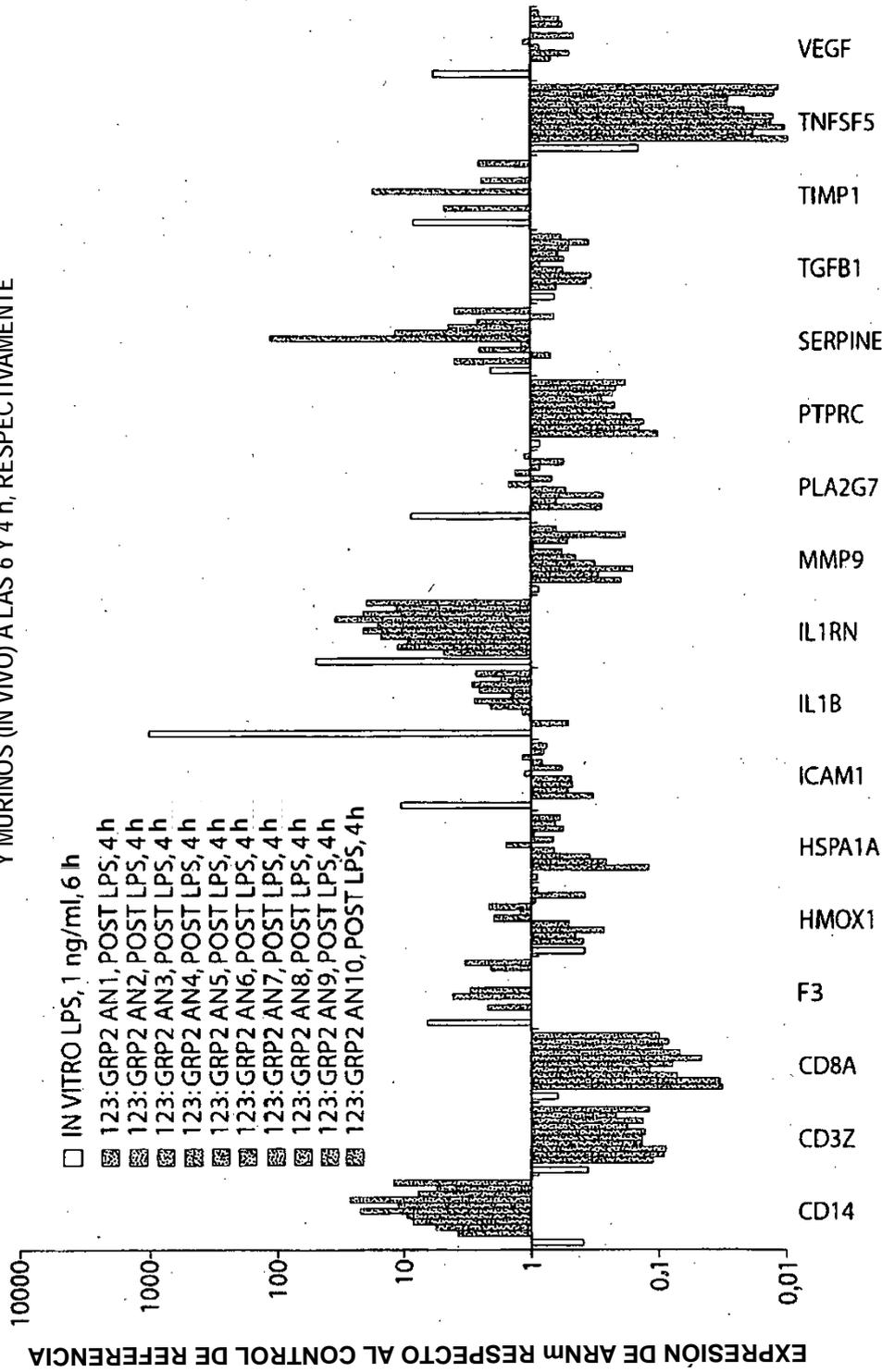


Fig. 7B

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS (IN VITRO)
Y MURINOS (IN VIVO) A LAS 24 h

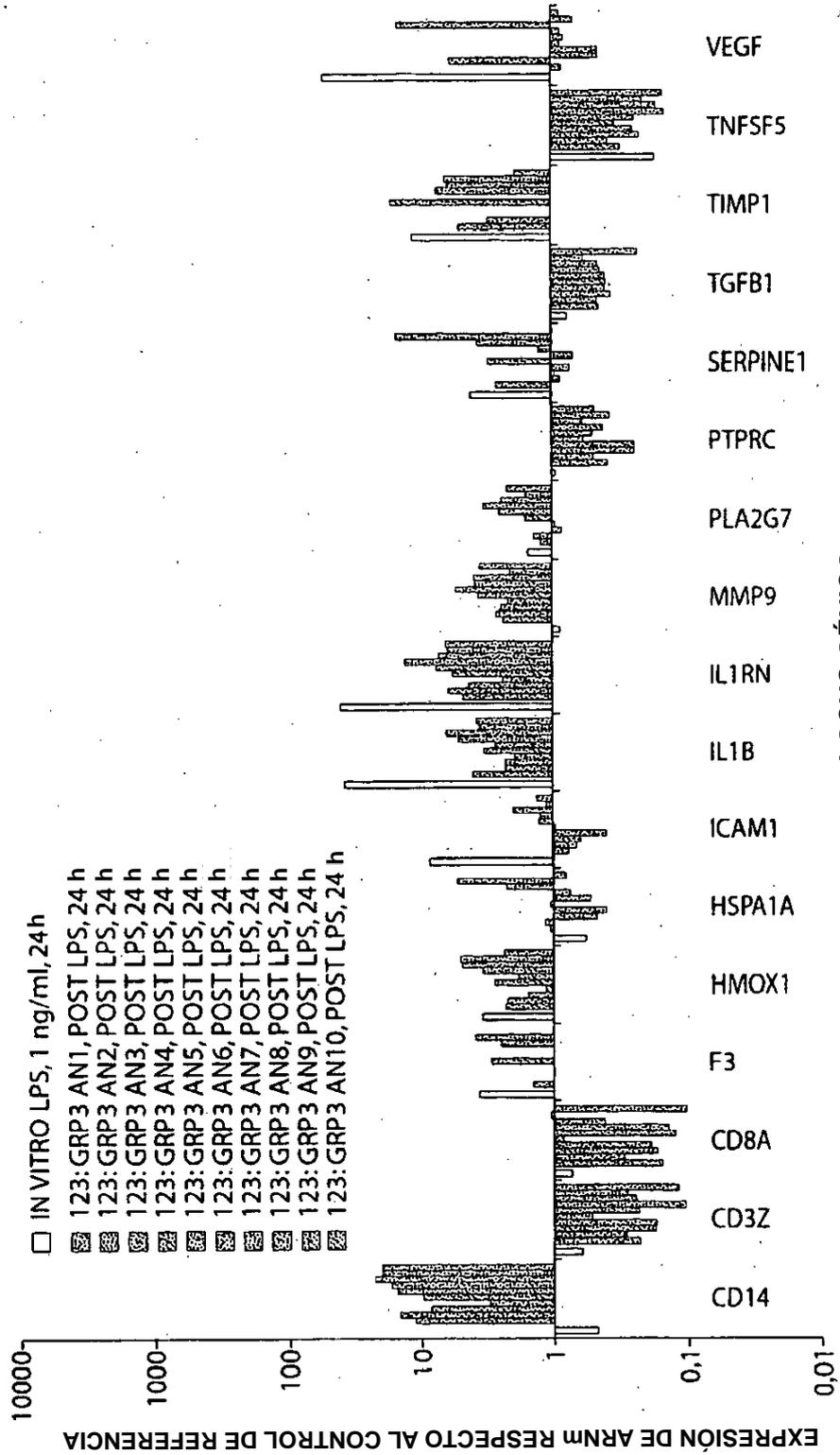


Fig.7C

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA A LA DEXAMETASONA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS (IN VITRO) Y MURINOS (IN VIVO) A LAS 2 Y 1,5 h, RESPECTIVAMENTE

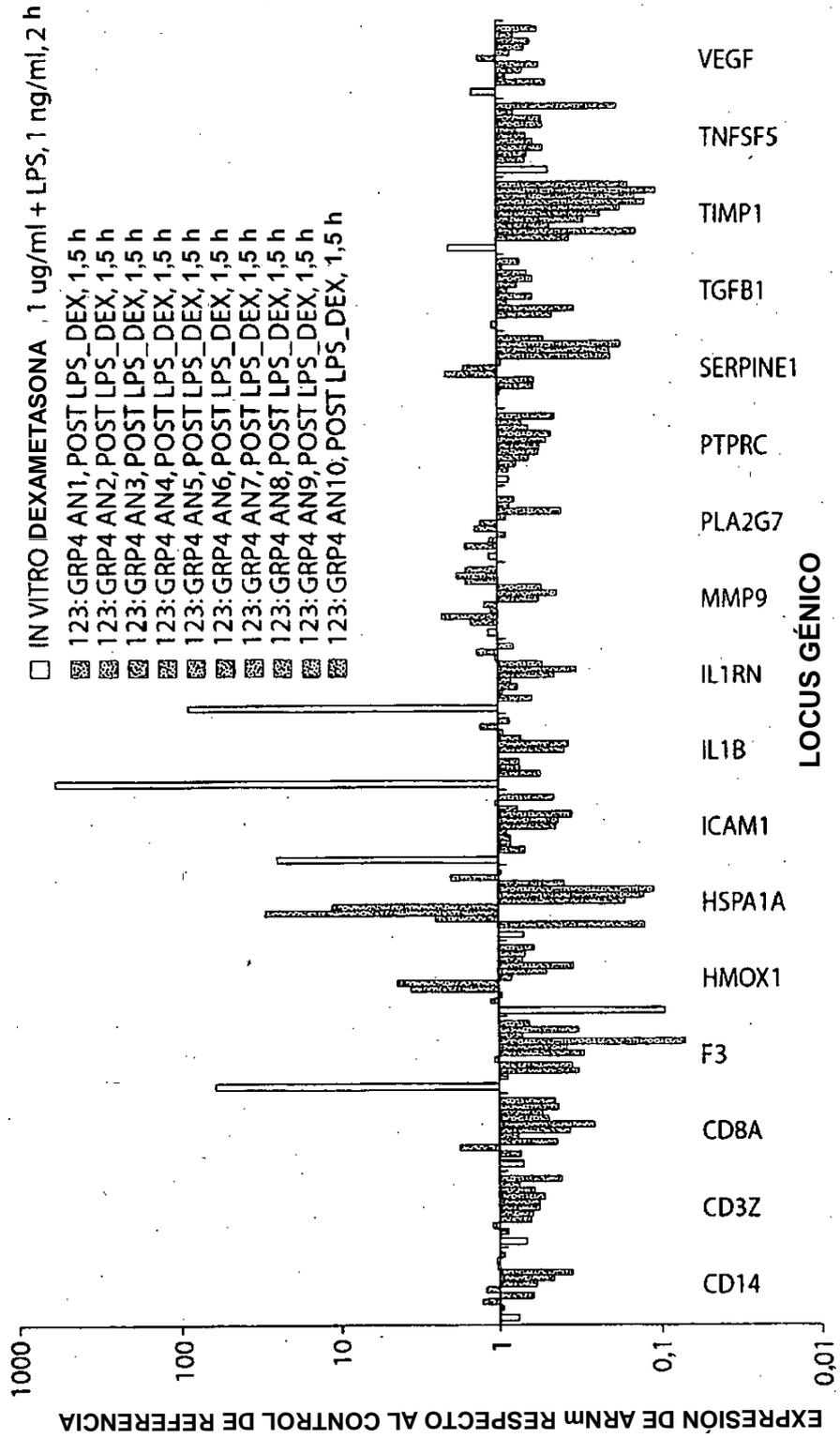


Fig. 8A

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA A LA DEXAMETASONA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS (IN VITRO) Y MURINOS (IN VIVO) A LAS 6 Y 4 h, RESPECTIVAMENTE

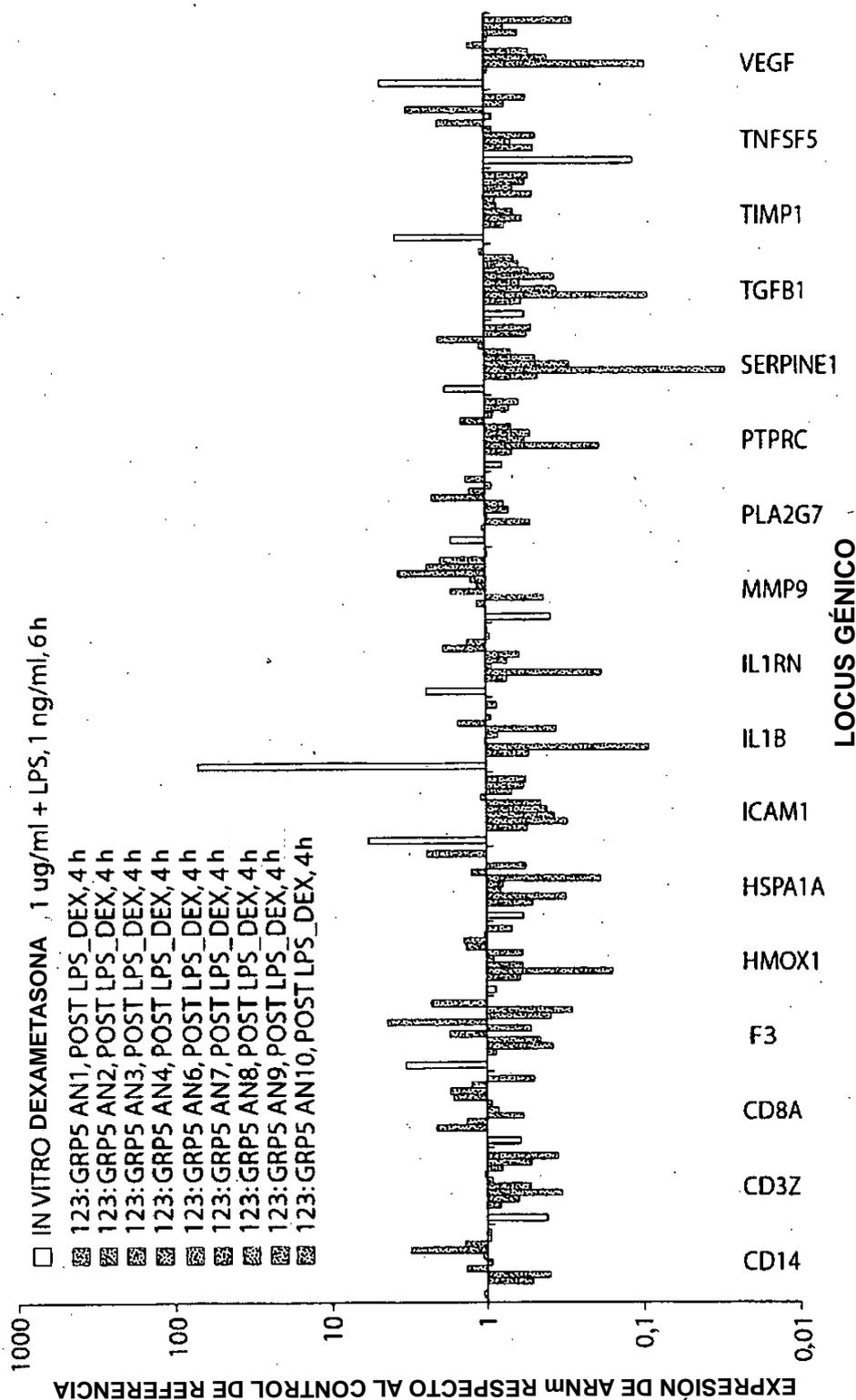


Fig. 8B

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA A LA DEXAMETASONA EN SANGRE ENTERA ESTIMULADA CON LPS EN SUJETOS HUMANOS (IN VITRO) Y MURINOS (IN VIVO) A LAS 24 h

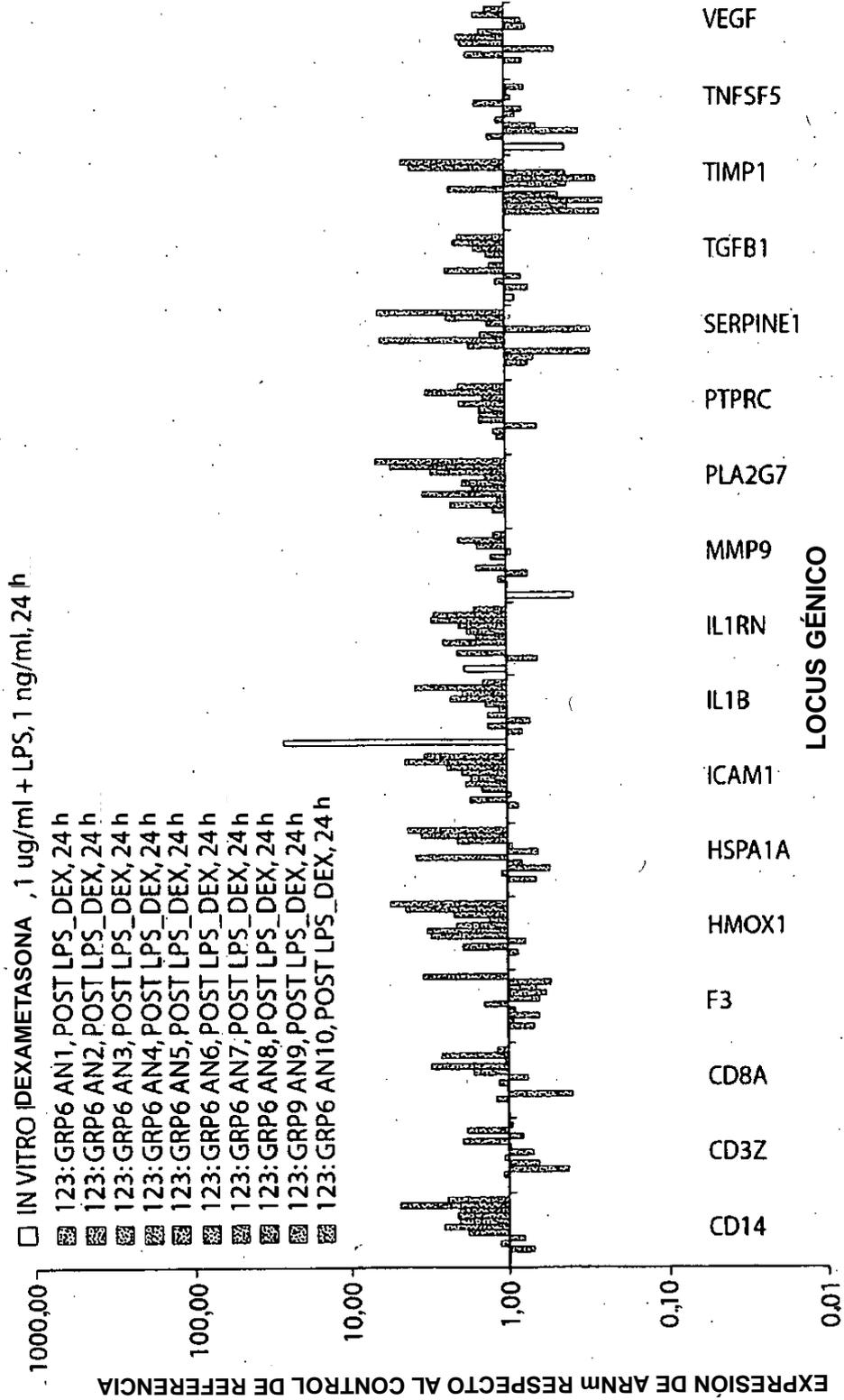
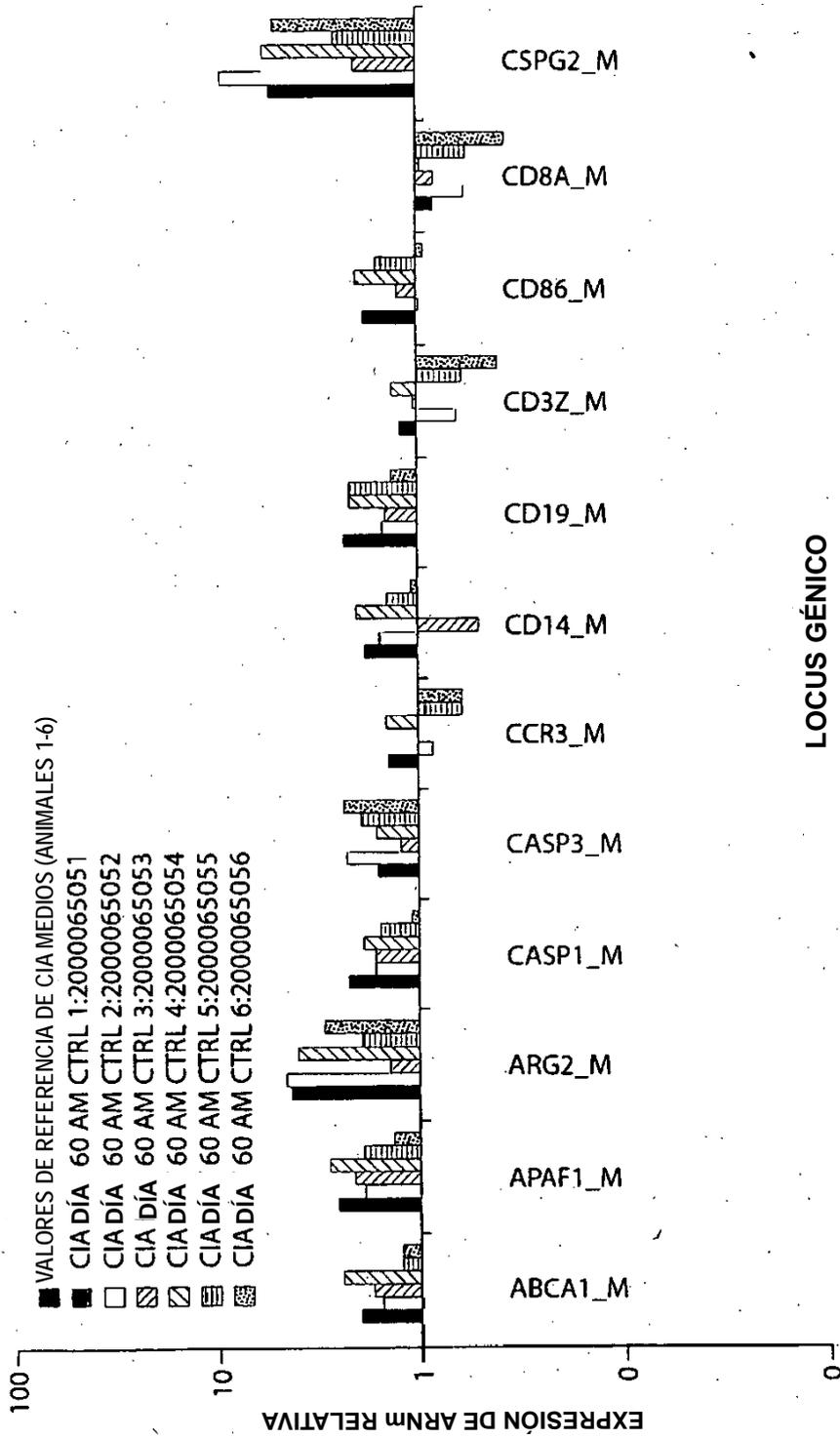


Fig. 8C

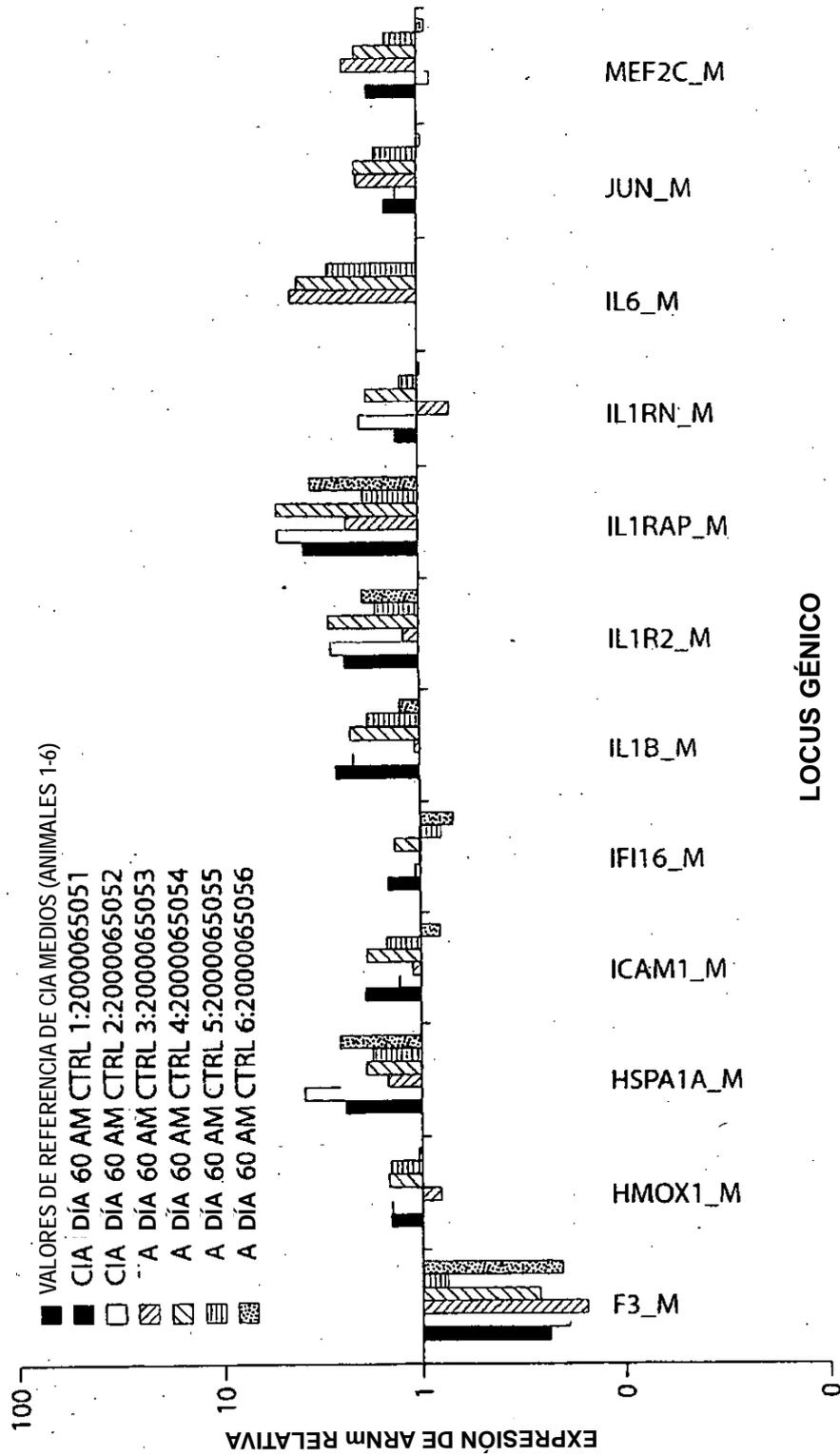
RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS SIN TRATAMIENTO PREVIO INDIVIDUALES, DEL MODELO DE CIA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS EL DÍA 0 (VALORES DE REFERENCIA ANIMALES 1-6)



LOCUS GÉNICO

Fig. 9A

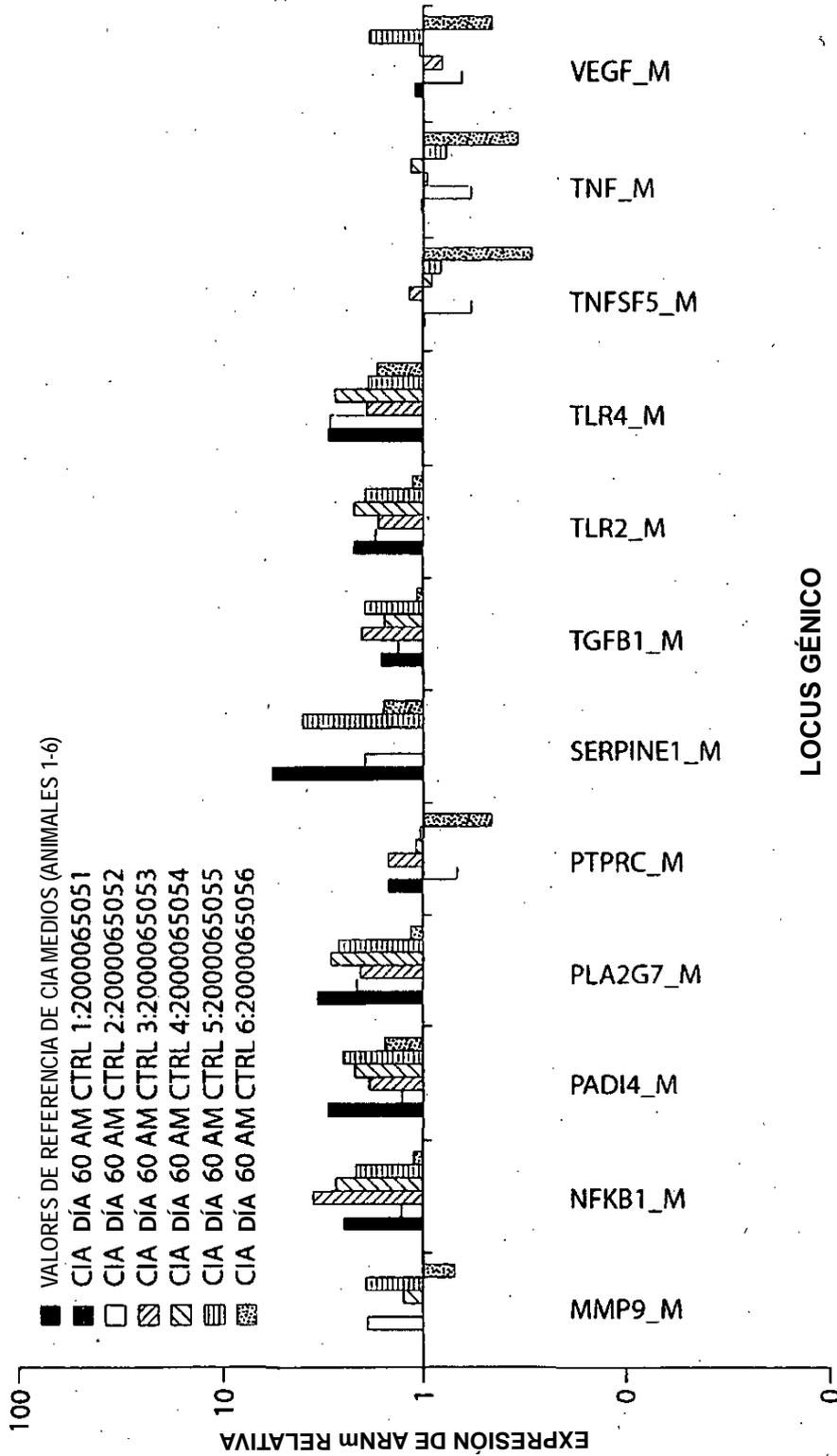
RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS SIN TRATAMIENTO PREVIO INDIVIDUALES, DEL MODELO DE CIA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS EL DÍA 0 (VALORES DE REFERENCIA ANIMALES 1-6)



LOCUS GÉNICO

Fig. 9B

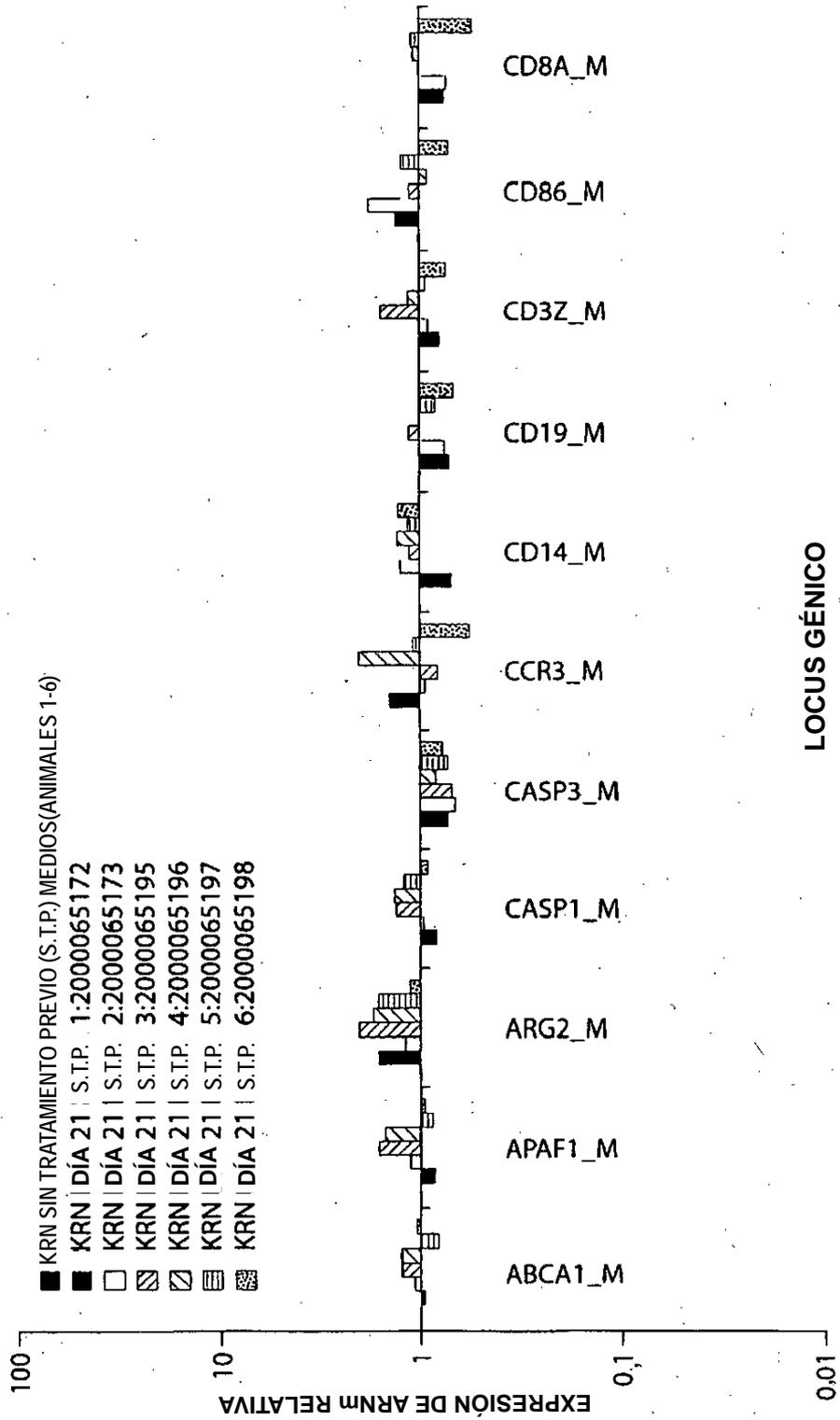
RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS SIN TRATAMIENTO PREVIO INDIVIDUALES, DEL MODELO DE CIA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS EL DÍA 0 (VALORES DE REFERENCIA ANIMALES 1-6)



LOCUS GÉNICO

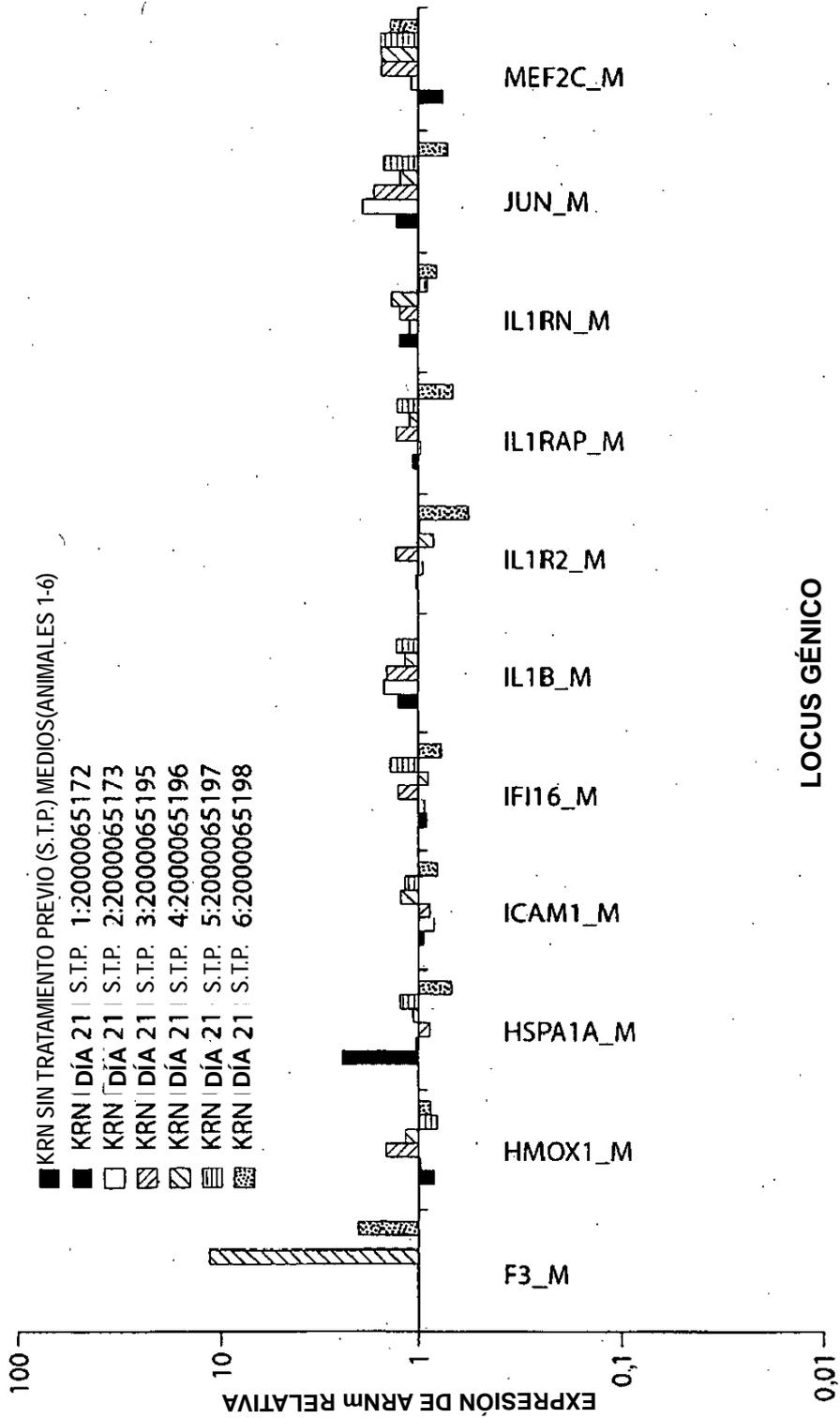
Fig. 9C

RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS SIN TRATAMIENTO PREVIO INDIVIDUALES, DEL MODELO DE KRN EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS EL DÍA 0 (SIN TRATAMIENTO PREVIO, ANIMALES 1-6)



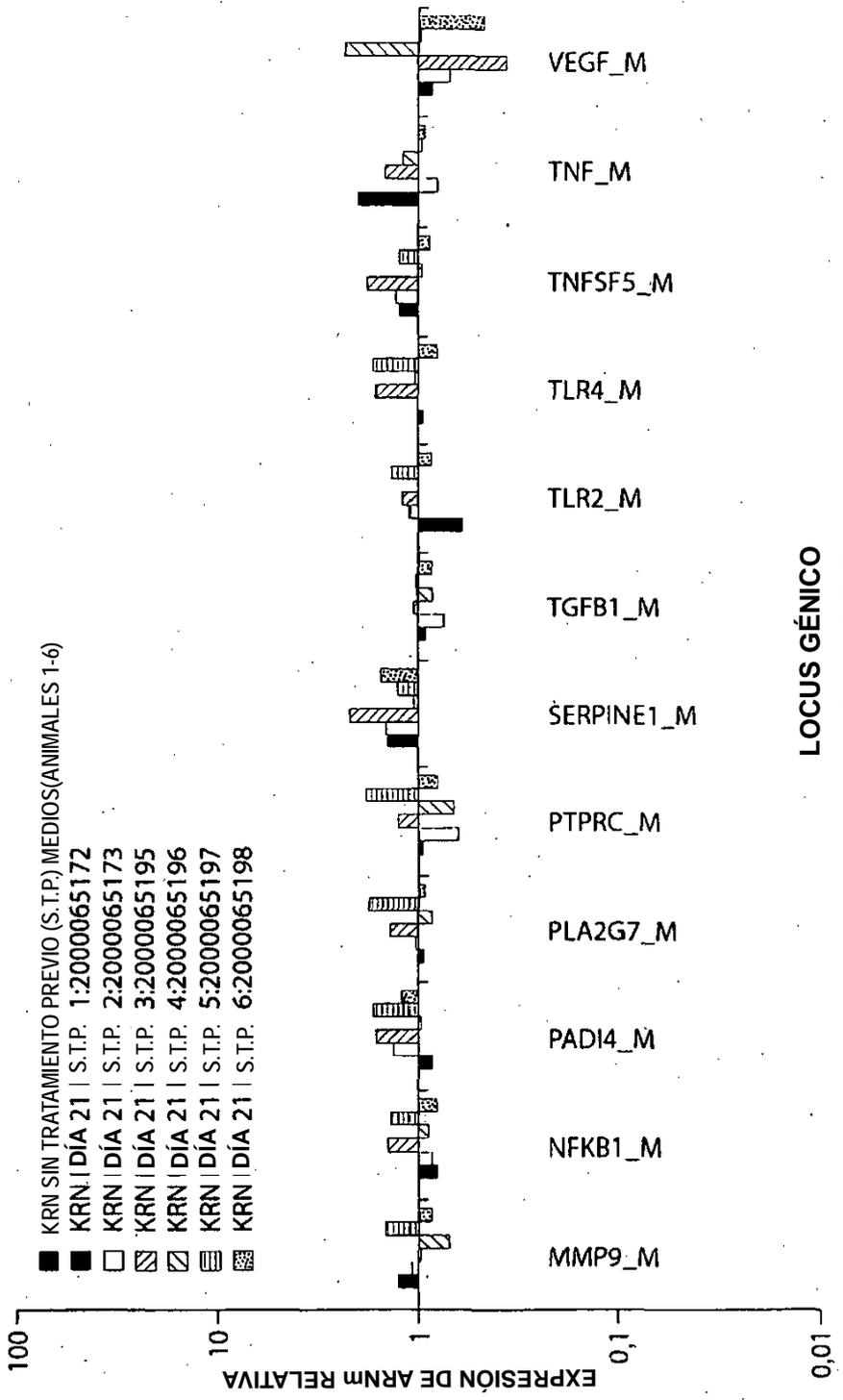
LOCUS GÉNICO
Fig. 10A

RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS SIN TRATAMIENTO PREVIO INDIVIDUALES, DEL MODELO DE KRN EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS EL DÍA 0 (SIN TRATAMIENTO PREVIO, ANIMALES 1-6)



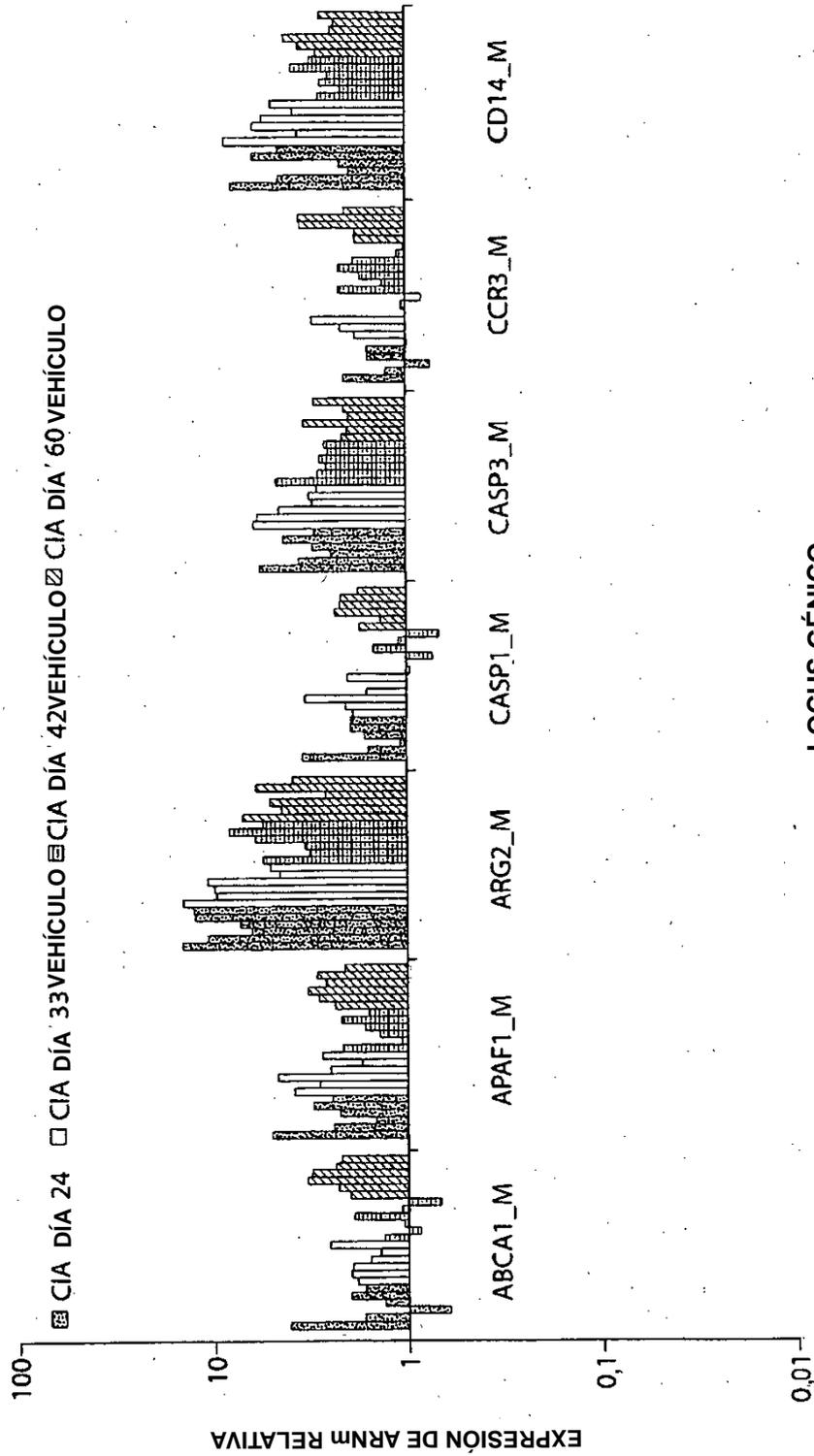
LOCUS GÉNICO
Fig. 10B

RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS SIN TRATAMIENTO PREVIO INDIVIDUALES, DEL MODELO DE KRN EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS EL DÍA 0 (SIN TRATAMIENTO PREVIO, ANIMALES 1-6)



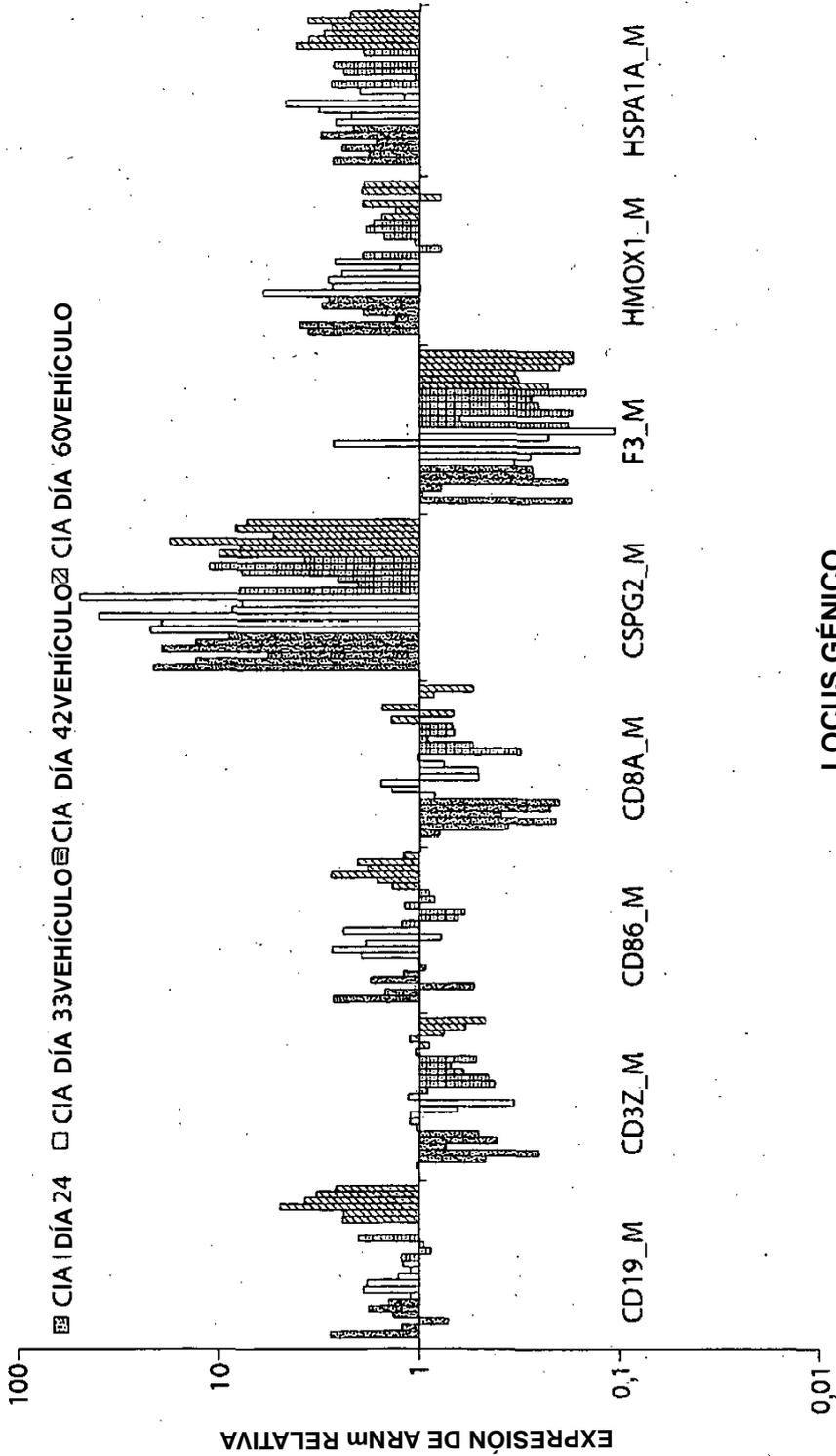
LOCUS GÉNICO
Fig. 10C

RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD EL DÍA 24 (NO TRATADOS), 33, 42 Y 60 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS DE CIA EL DÍA 0 (n=6)



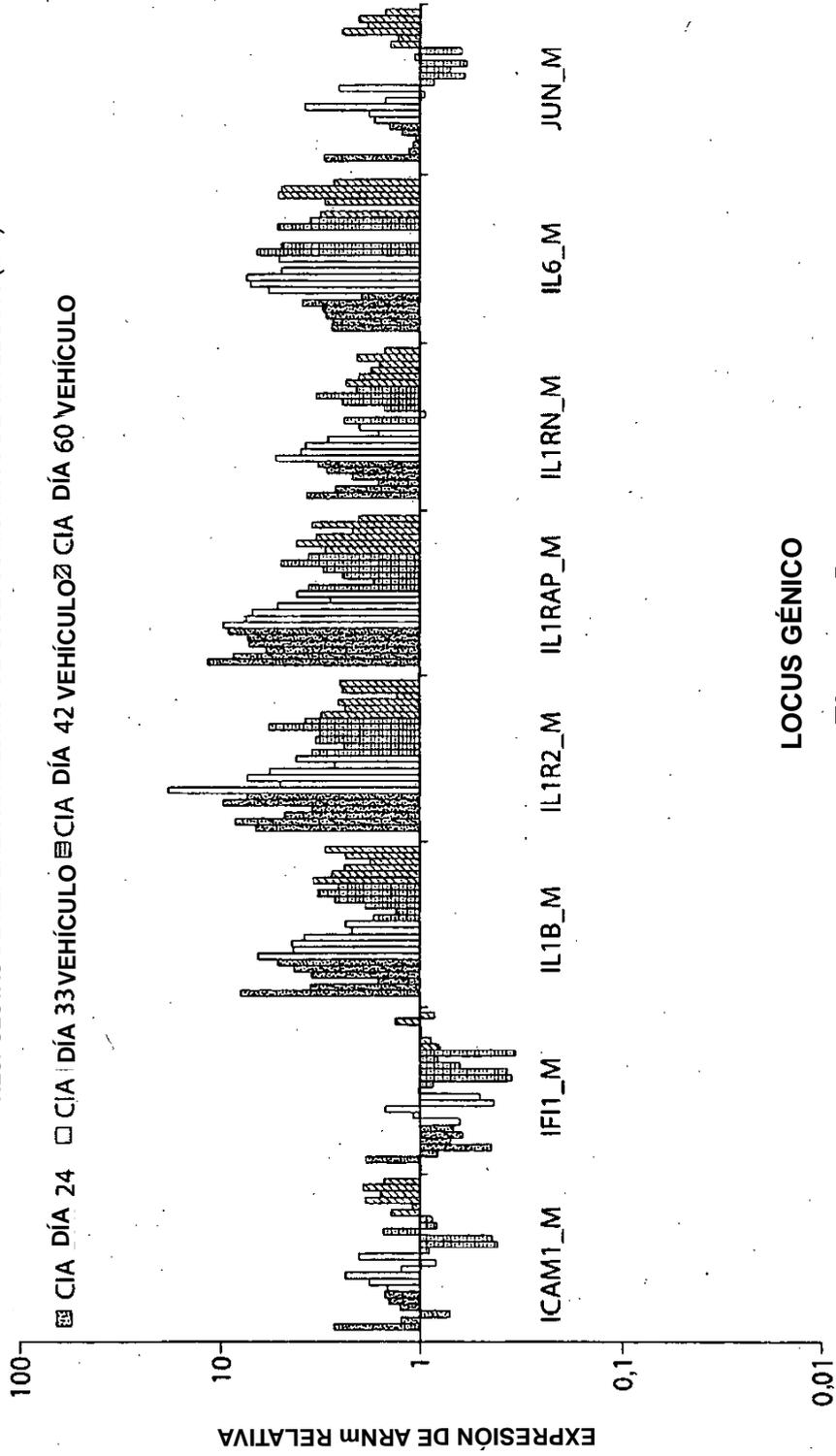
LOCUS GÉNICO
 Fig. 11A

RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA
DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD EL DÍA 24 (NO TRATADOS), 33, 42 Y 60 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS
RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS DE CIA EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO
Fig. 11B

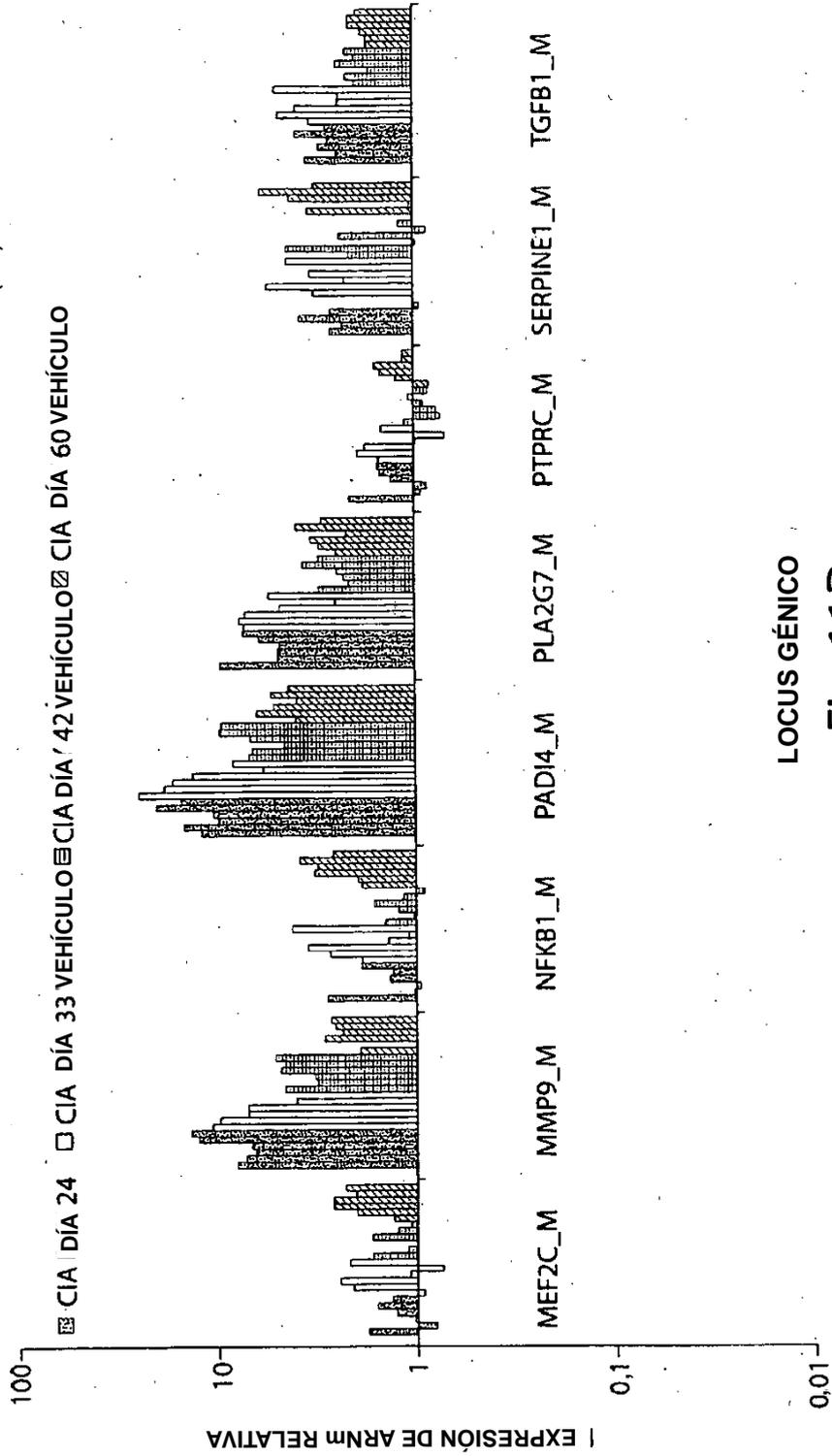
RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA
 DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD EL DÍA 24 (NO TRATADOS), 33, 42 Y 60 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS
 RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS DE CIA EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO

Fig.11C

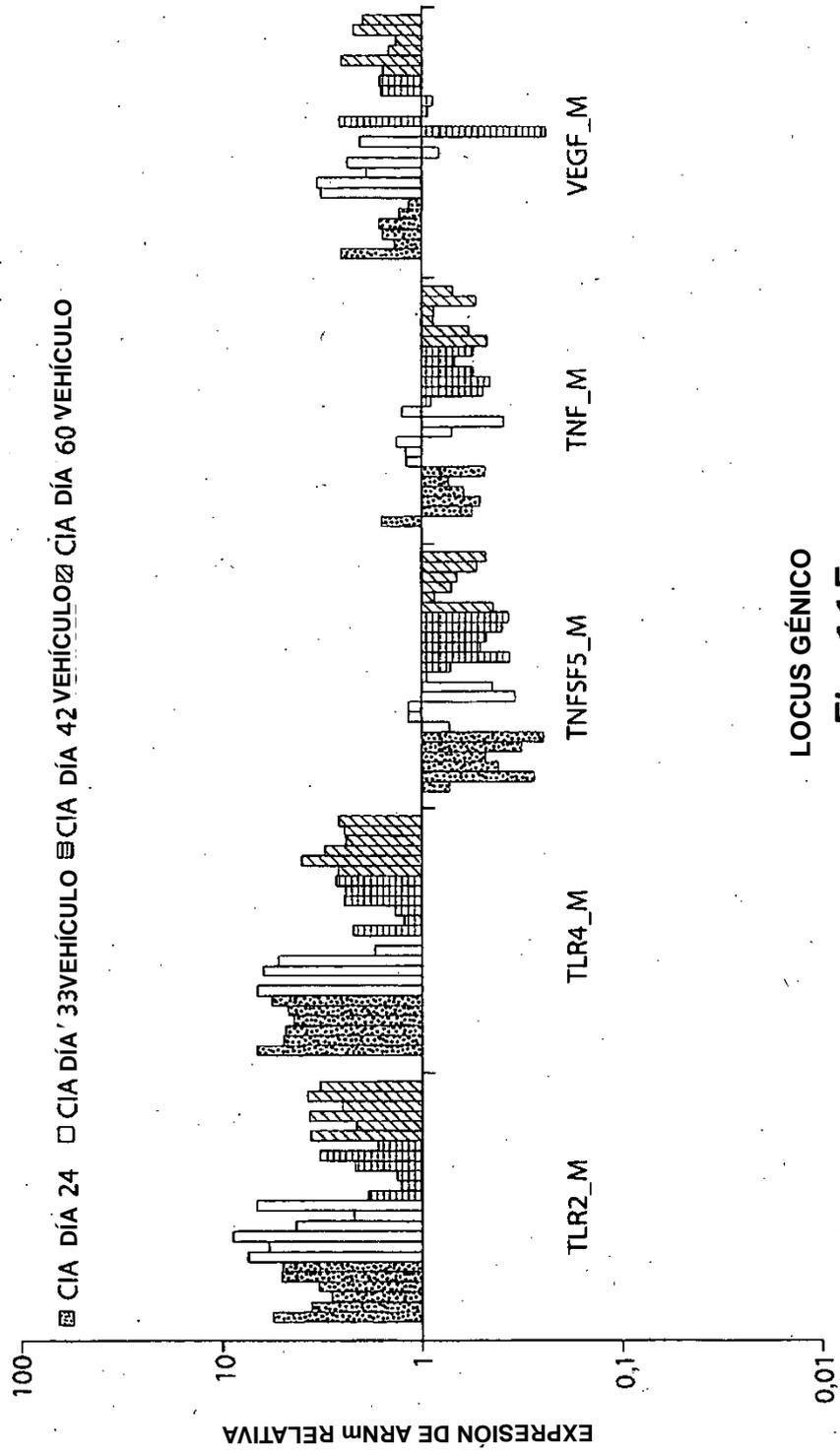
RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA
 F DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD EL DÍA 24 (NO TRATADOS), 33, 42 Y 60 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS
 RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS DE CIA EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO

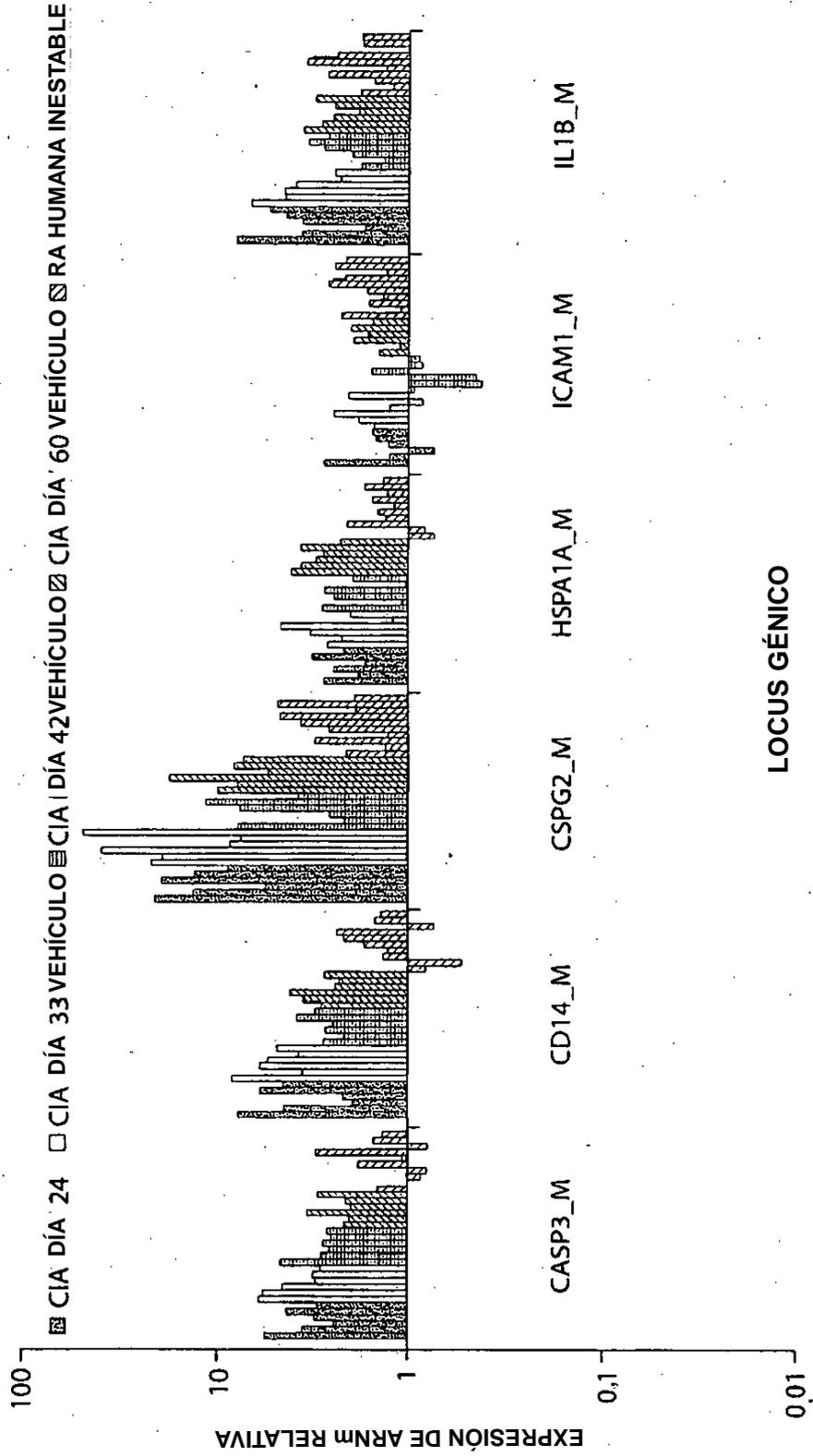
Fig. 11D

RESPUESTAS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA
 DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD EL DÍA 24 (NO TRATADOS), 33, 42 Y 60 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS
 RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS DE CIA EL DÍA 0 (n=6)



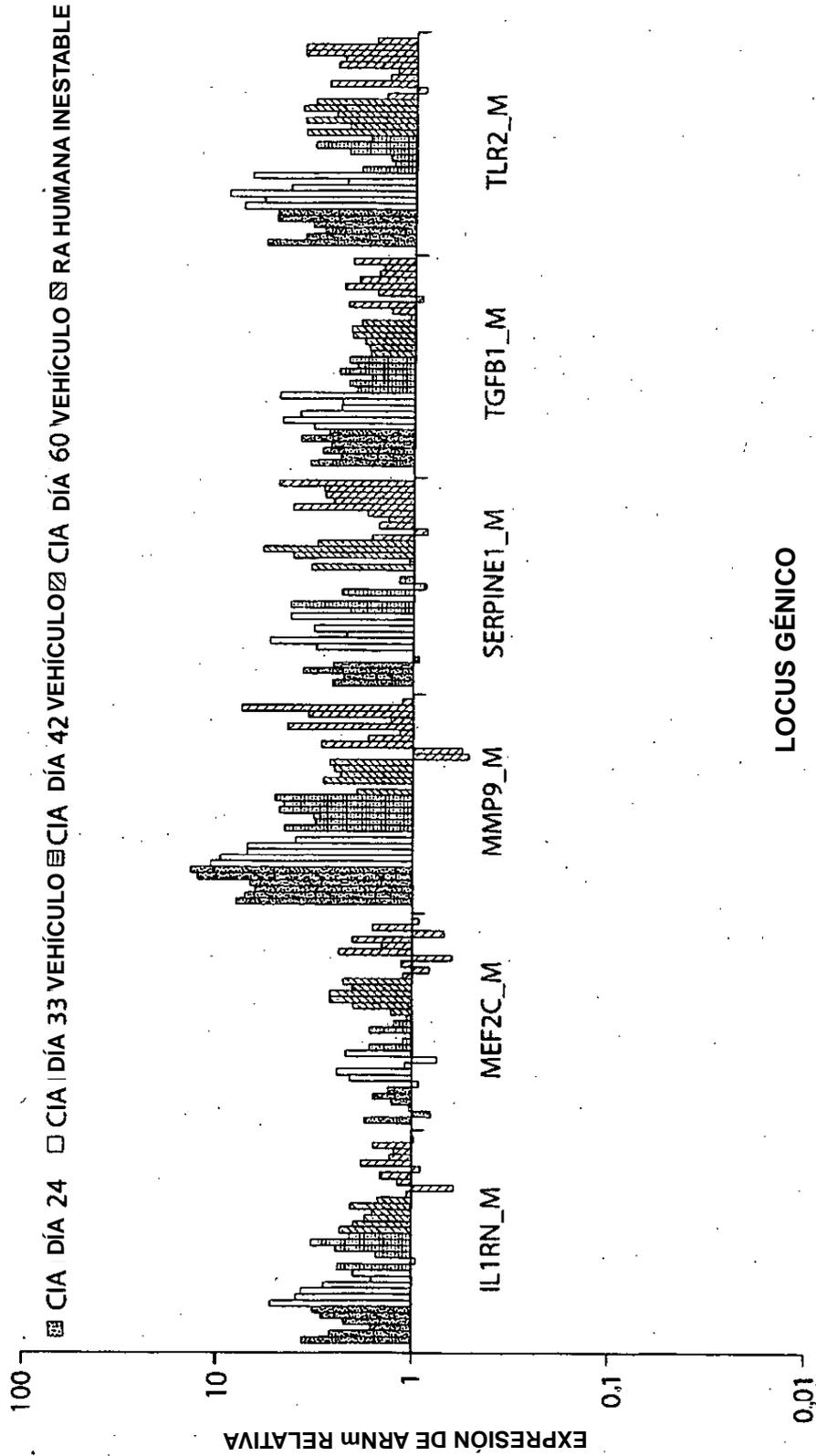
LOCUS GÉNICO
 Fig. 11E

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA DE GENES DIANA SELECCIONADOS DE LA ARTRITIS INDUCIDA POR COLÁGENO EN RATONES MACHO DBA/1 RESPECTO A SUJETOS HUMANOS CON AR (UN SOLO TIEMPO DE MEDIDA, INESTABLE EN EL VALOR DE REFERENCIA, n=10)



LOCUS GÉNICO
Fig. 11F

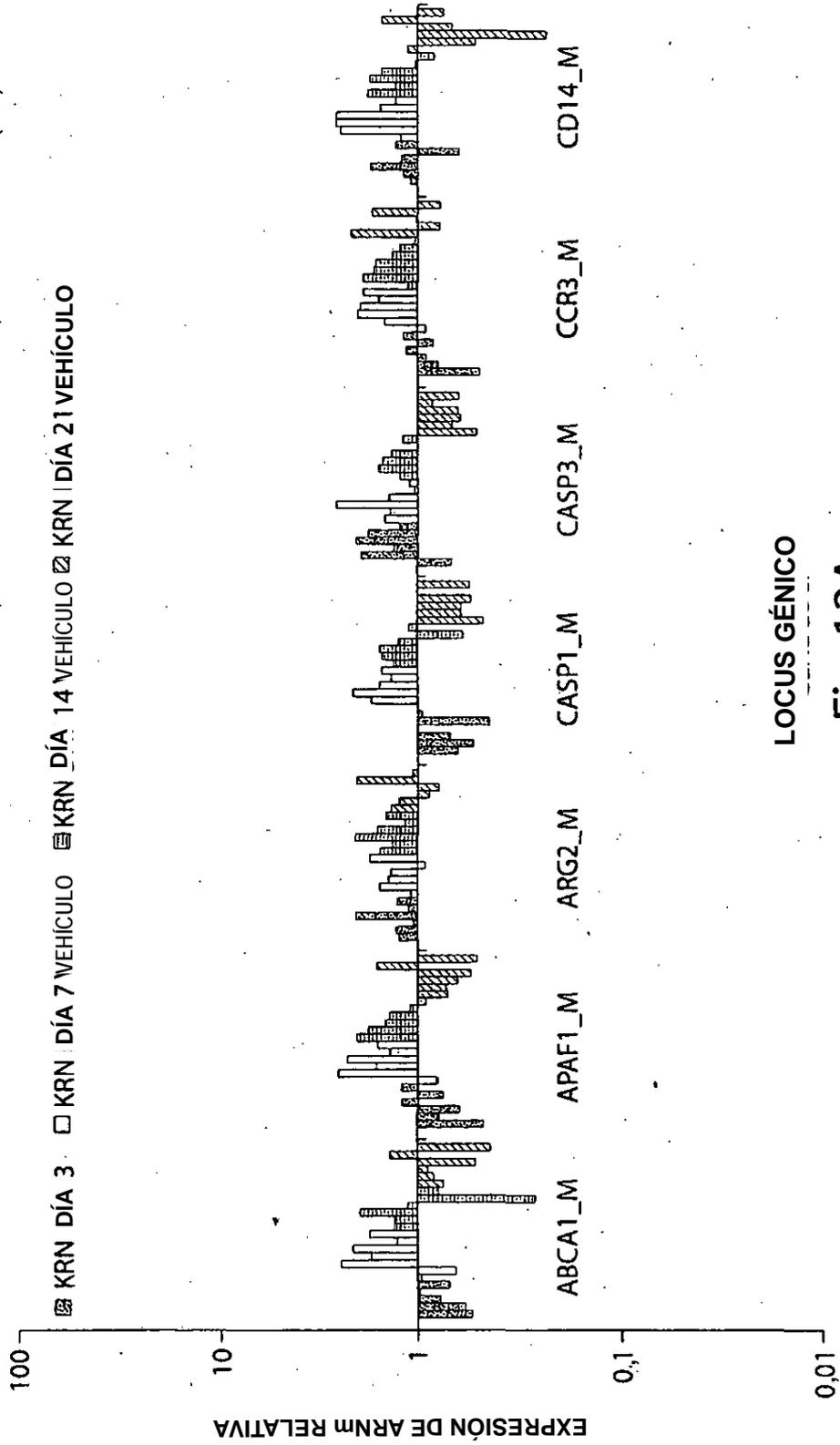
COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA DE GENES DIANA SELECCIONADOS DE LA ARTRITIS INDUCIDA POR COLÁGENO EN RATONES MACHO DBA/1 RESPECTO A SUJETOS HUMANOS CON AR (UN SOLO TIEMPO DE MEDIDA, INESTABLE EN EL VALOR DE REFERENCIA, n=10)



LOCUS GÉNICO

Fig. 11G

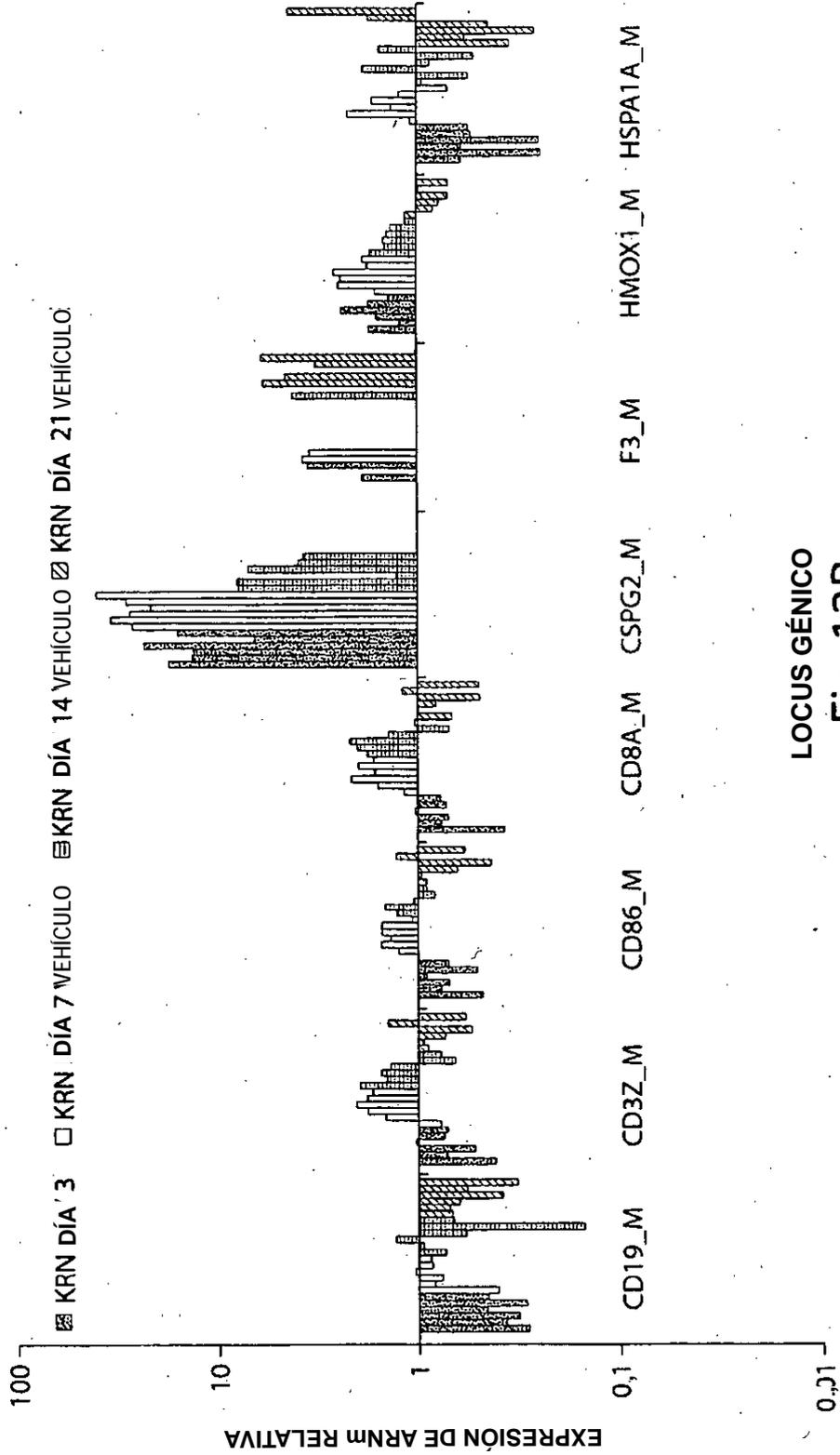
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD LOS DÍAS 3 (NO TRATADOS), 7, 14 Y 21 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, DE KRN EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO

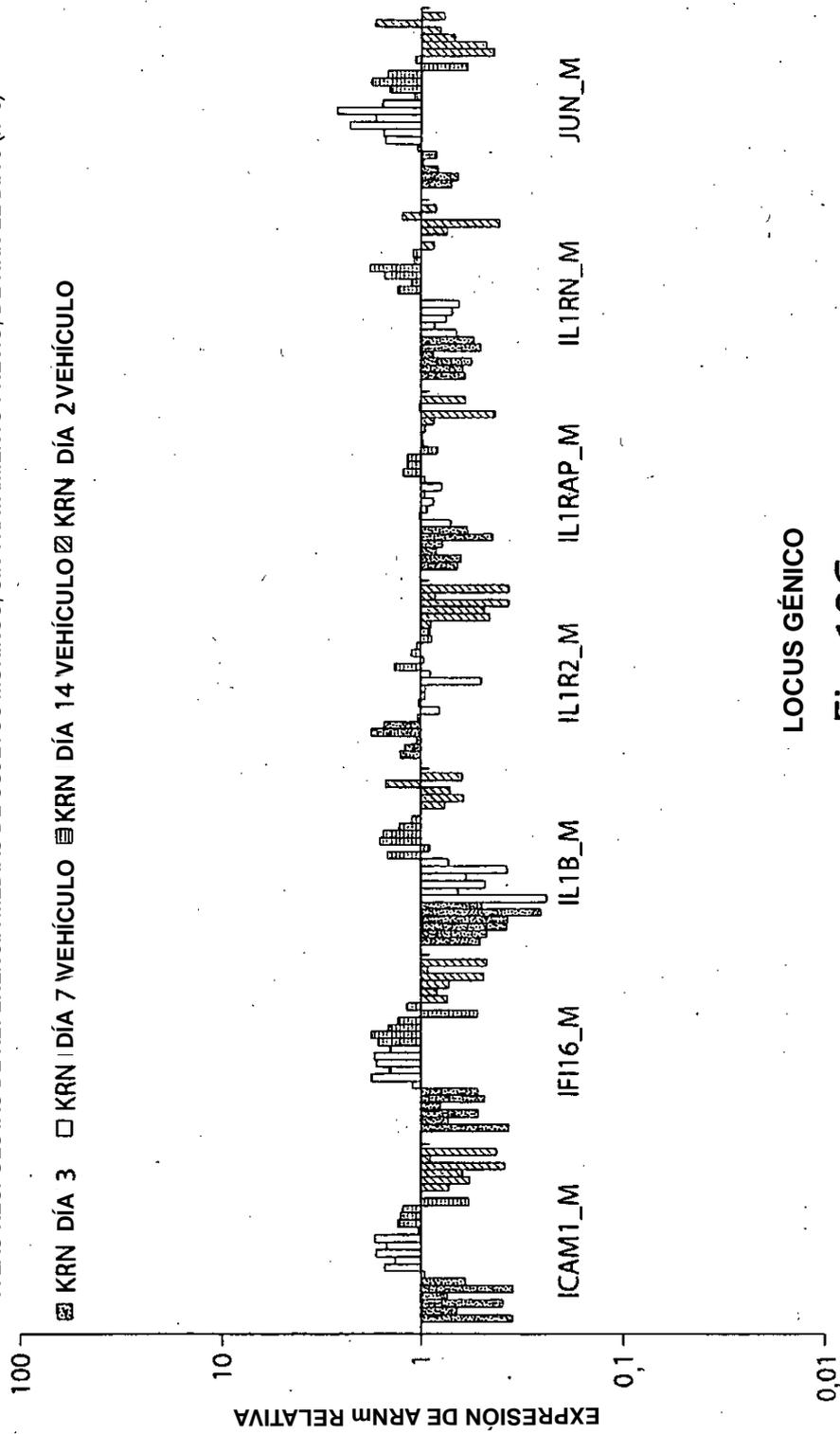
Fig. 12A

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD LOS DÍAS 3 (NO TRATADOS), 7, 14 Y 21 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, DE KRN EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO
 Fig. 12B

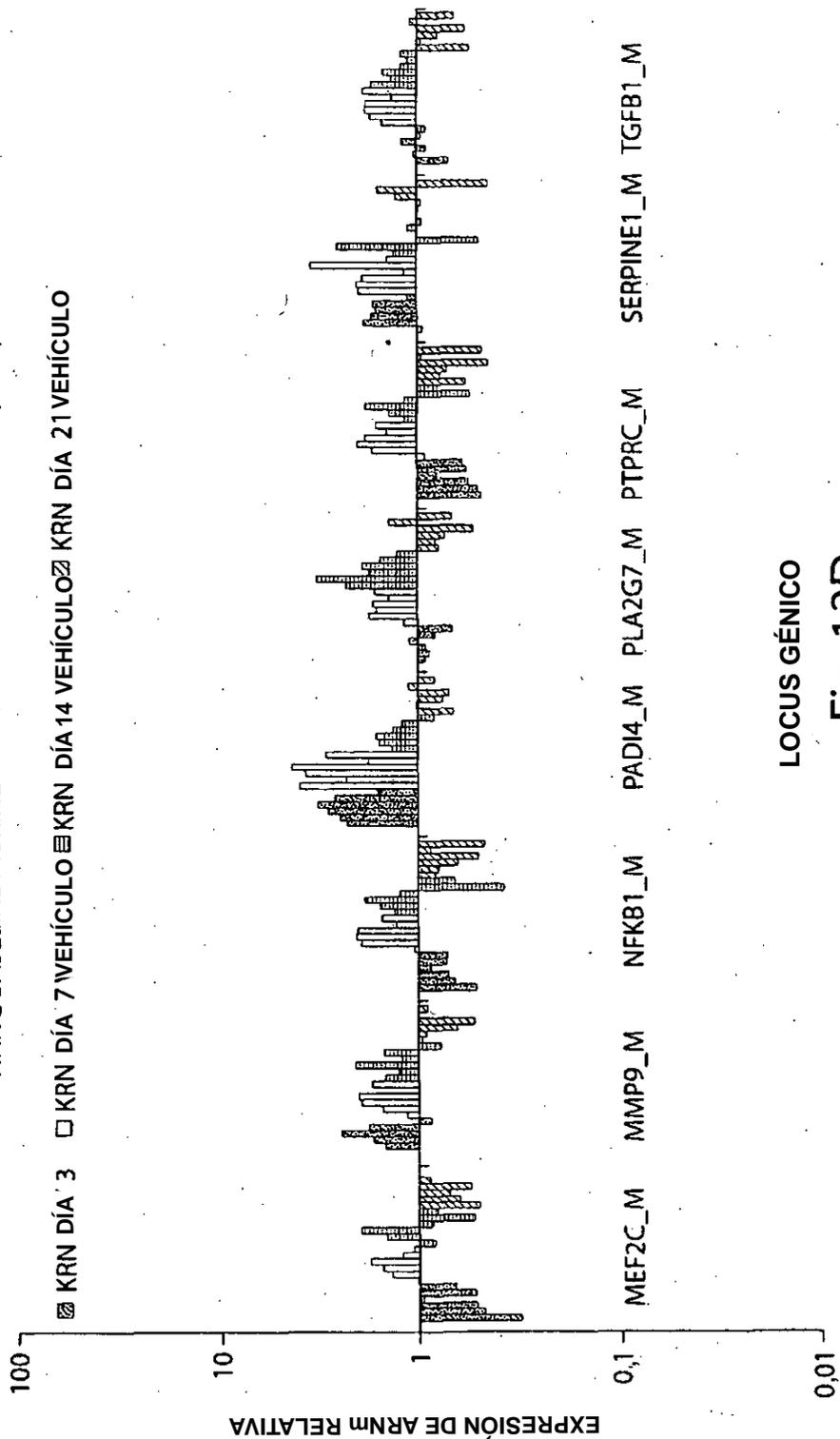
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD LOS DÍAS 3 (NO TRATADOS), 7, 14 Y 21 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, DE KRN EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO

Fig. 12C

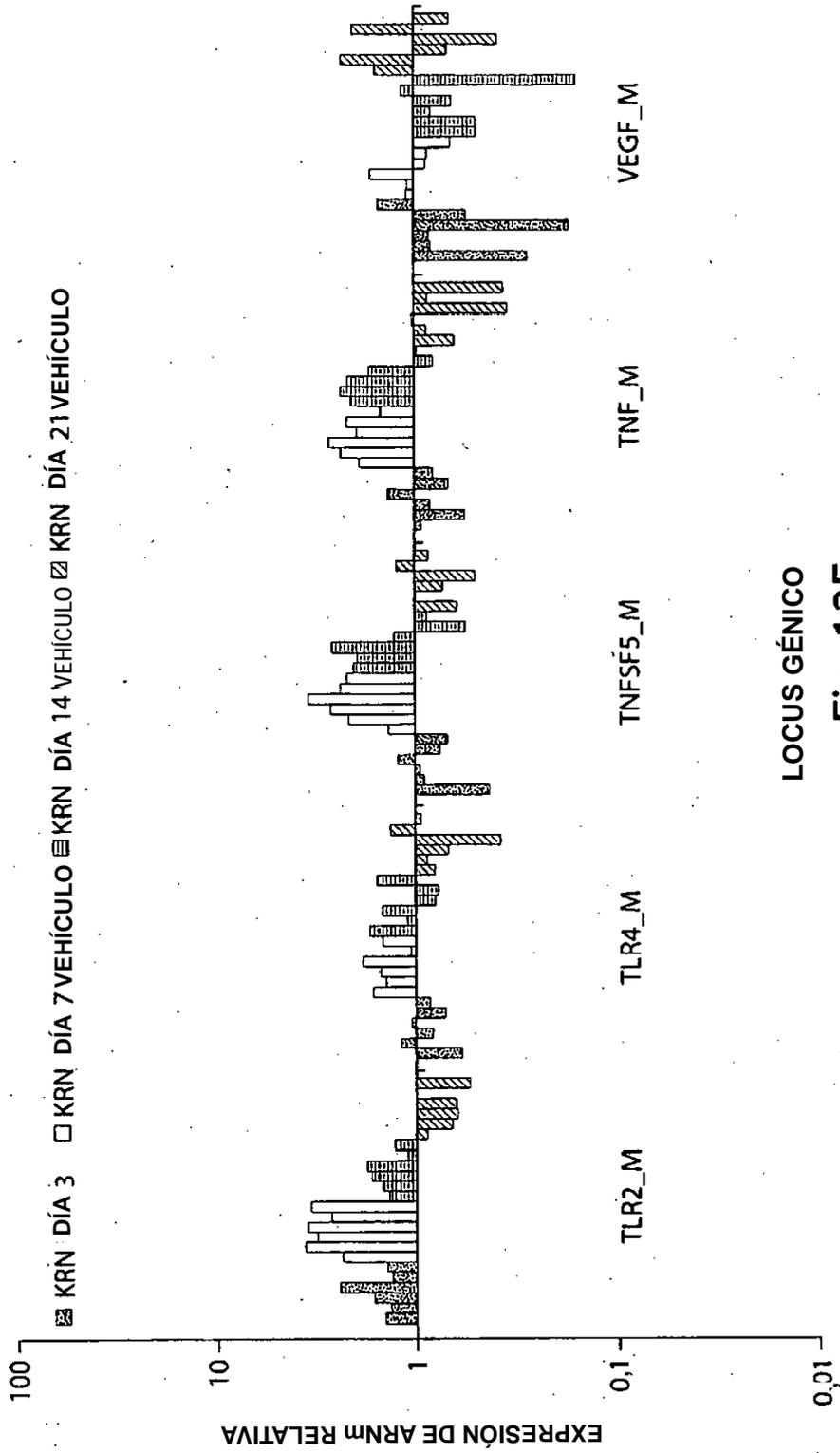
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD LOS DÍAS 3 (NO TRATADOS), 7, 14 Y 21 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, DE KRN EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO

Fig. 12D

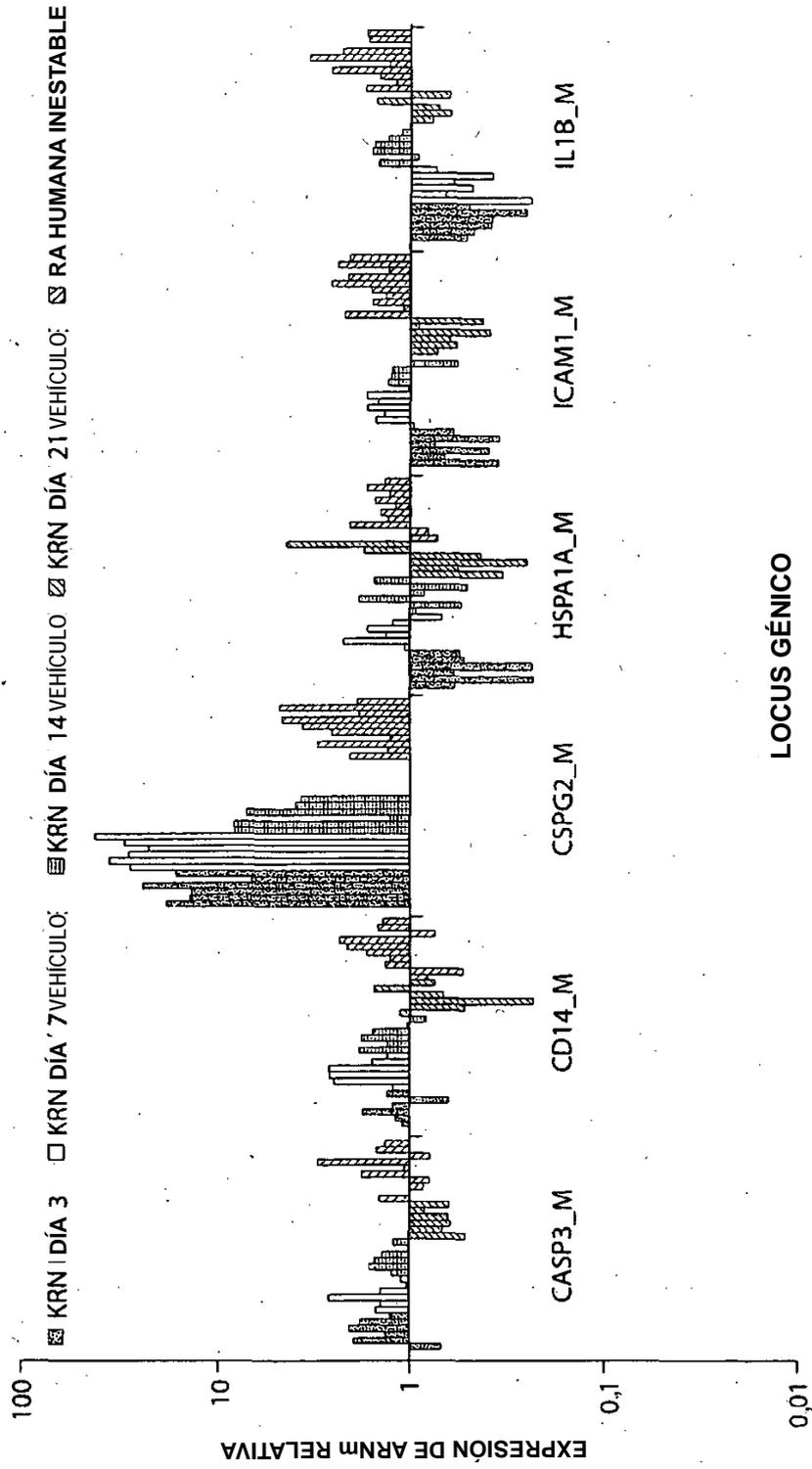
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD LOS DÍAS 3 (NO TRATADOS), 7, 14 Y 21 (TRATADOS CON VEHÍCULO) RESPECTO A LAS RESPUESTAS DE REFERENCIA MEDIAS DE SUJETOS MURINOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, DE KRN EL DÍA 0 (n=6)



LOCUS GÉNICO

Fig. 12E

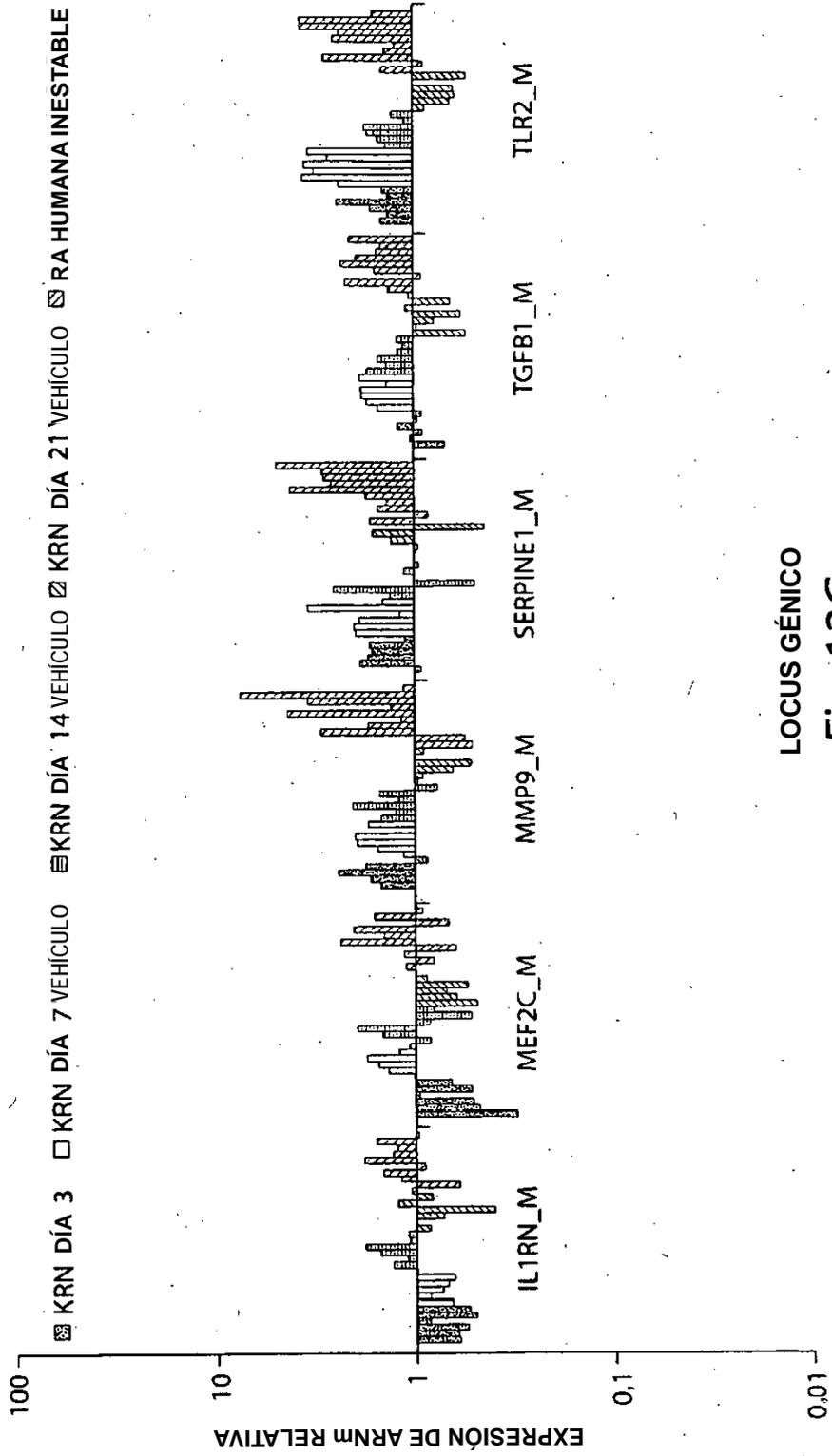
COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA DE GENES DIANA SELECCIONADOS DE LA ARTRITIS INDUCIDA POR TRANSFERENCIA DE SUERO EN RATONES HEMBRA Balb/c RESPECTO A SUJETOS HUMANOS CON AR (UN SOLO TIEMPO DE MEDIDA, INESTABLE EN EL VALOR DE REFERENCIA, n=10)



LOCUS GÉNICO

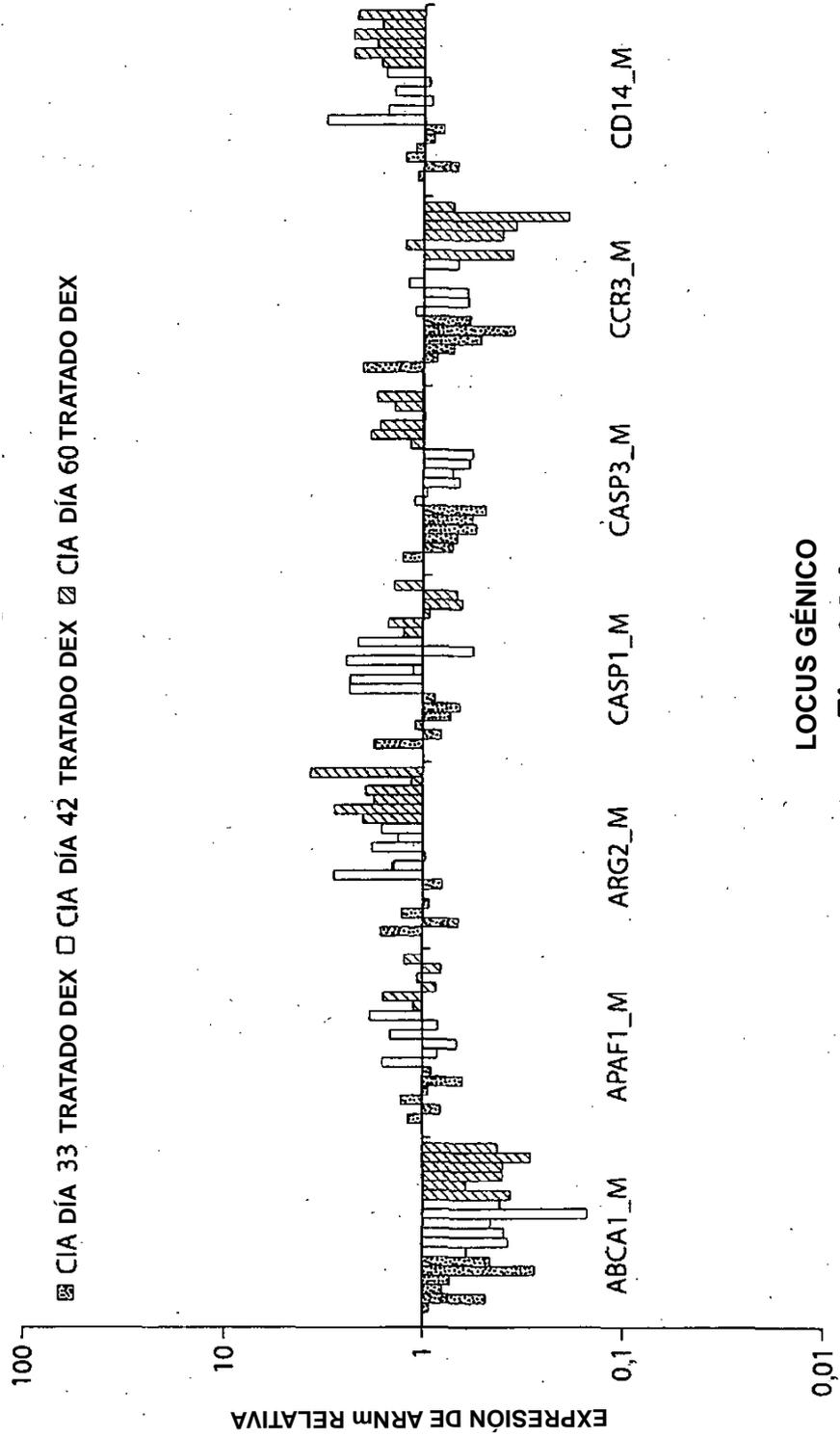
Fig. 12F

COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA DE GENES DIANA SELECCIONADOS DE LA ARTRITIS INDUCIDA POR TRANSFERENCIA DE SUERO EN RATONES HEMBRA Balb/c RESPECTO A SUJETOS HUMANOS CON AR (UN SOLO TIEMPO DE MEDIDA, INESTABLE EN EL VALOR DE REFERENCIA, n=10)



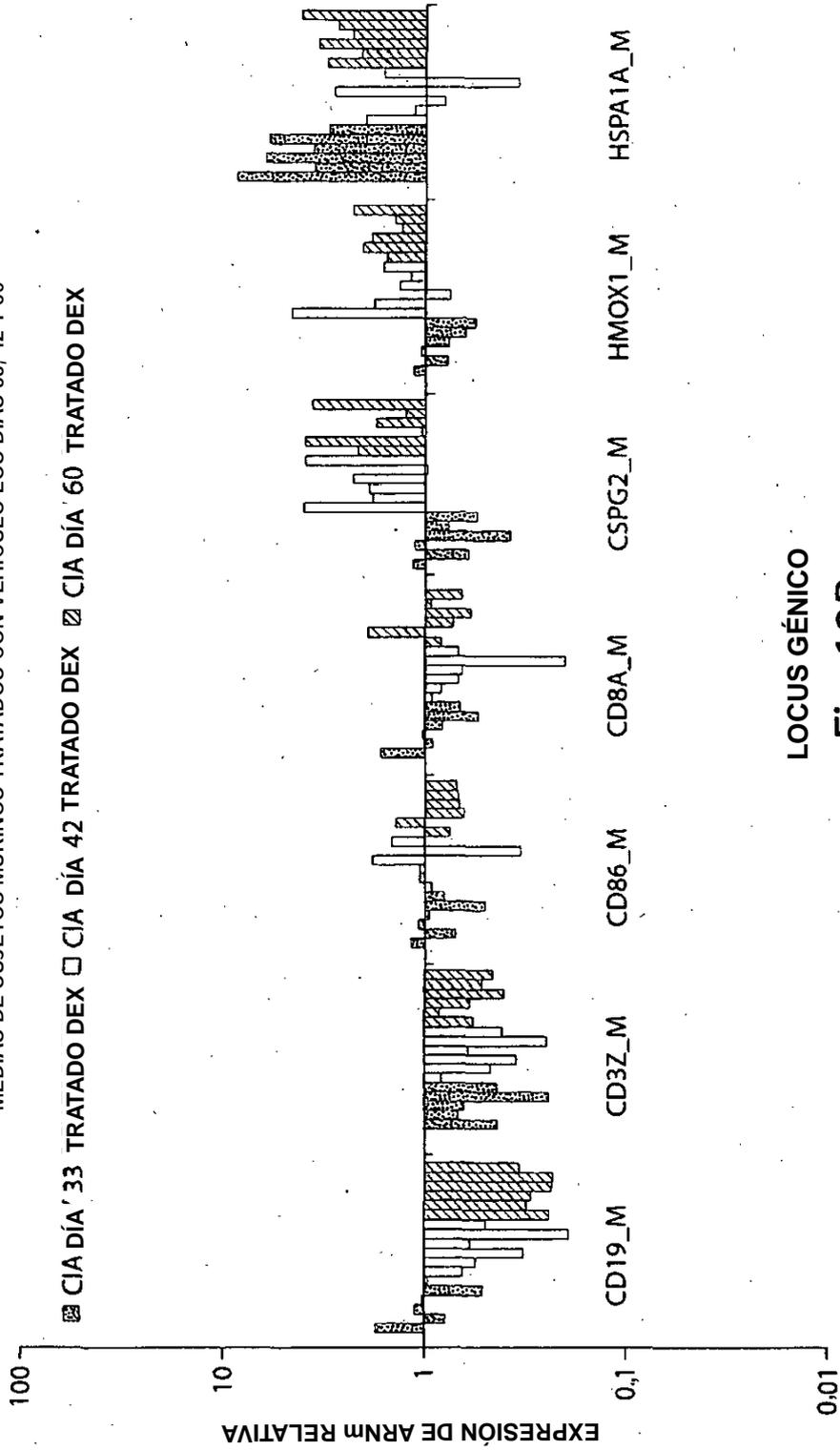
LOCUS GÉNICO
Fig. 12G

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON DEXAMETASONA LOS DÍAS 33, 42 Y 60, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 33, 42 Y 60



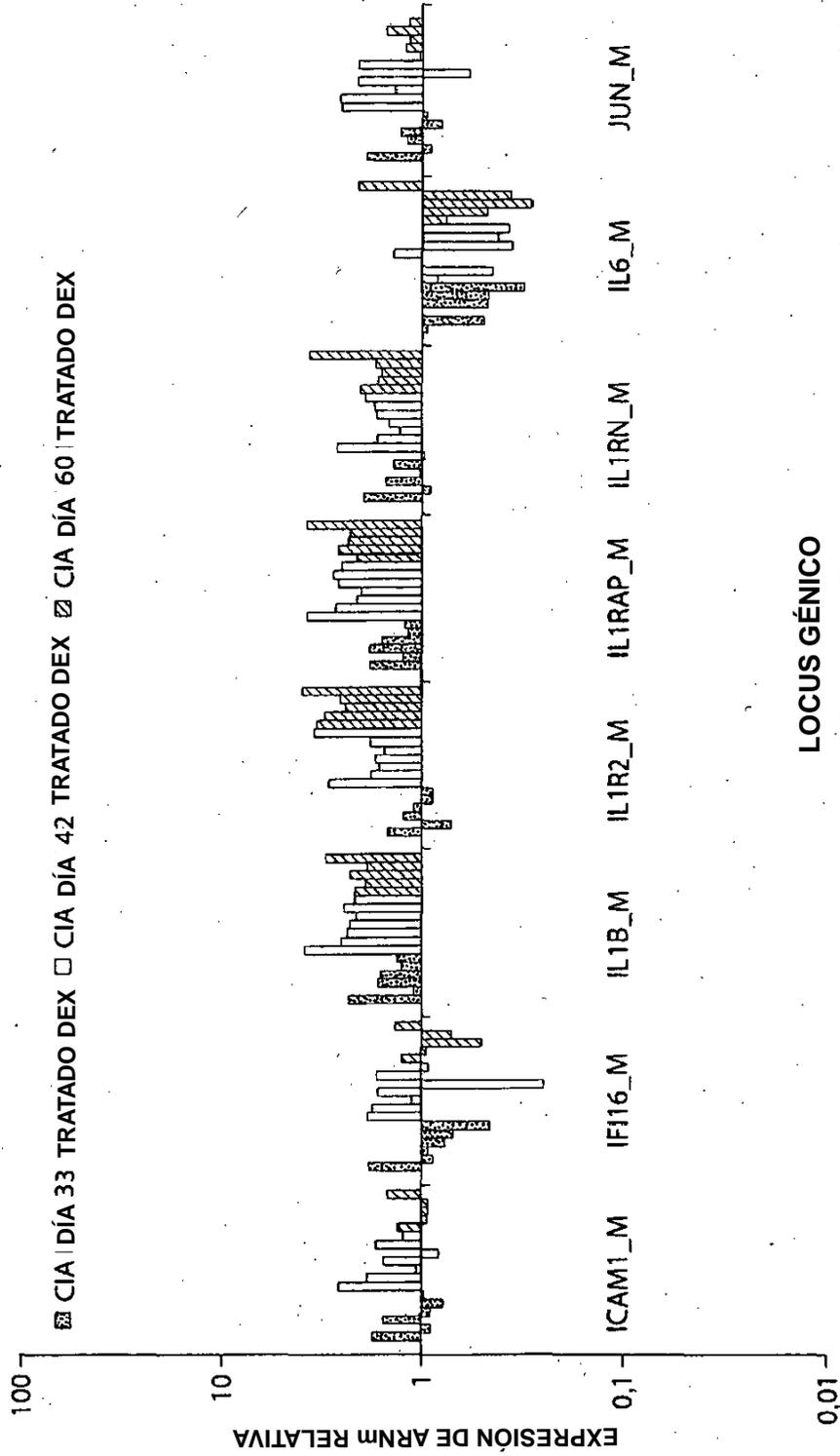
LOCUS GÉNICO
 Fig. 13A

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON DEXAMETASONA LOS DÍAS 33, 42 Y 60, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 33, 42 Y 60



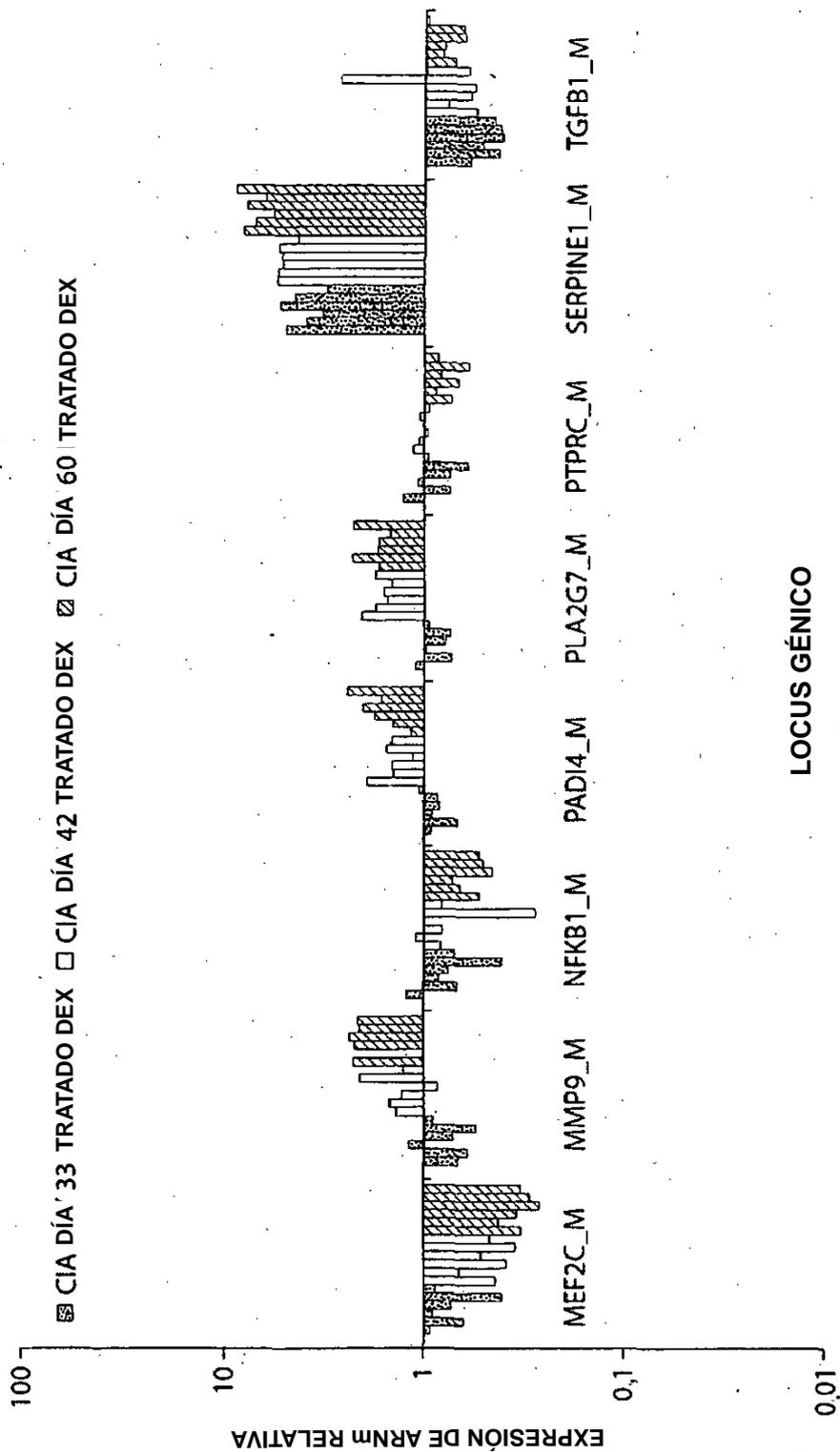
LOCUS GÉNICO
 Fig. 13B

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL
 TRATAMIENTO CON DEXAMETASONA LOS DÍAS 33, 42 Y 60, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS
 MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 33, 42 Y 60



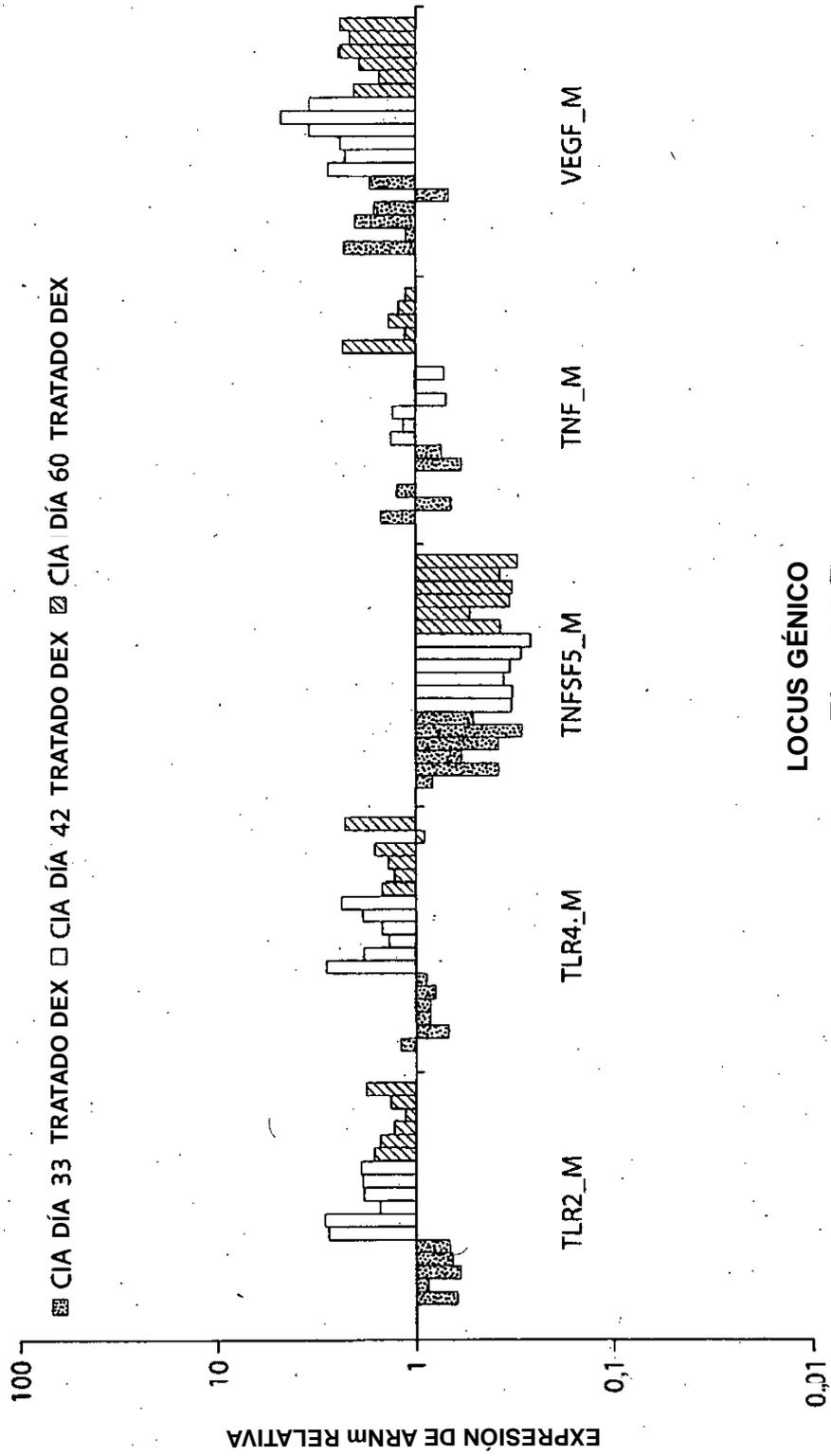
LOCUS GÉNICO
 Fig. 13C

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON DEXAMETASONA LOS DÍAS 33, 42 Y 60, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 33, 42 Y 60



LOCUS GÉNICO
 Fig. 13D

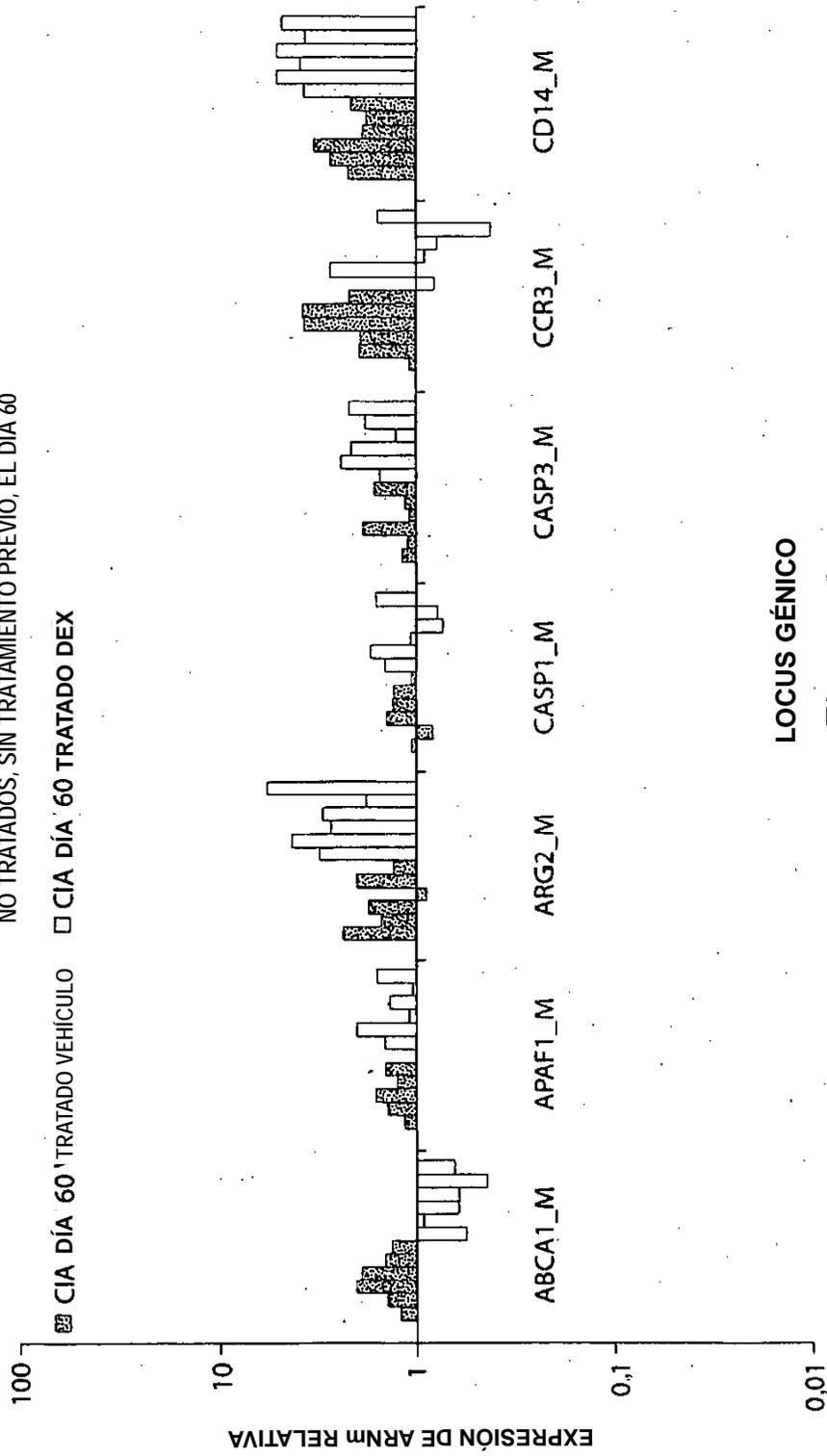
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON DEXAMETASONA LOS DÍAS 33, 42 Y 60, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 33, 42 Y 60



LOCUS GÉNICO
Fig. 13E

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON VEHÍCULO O DEXAMETASONA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 60

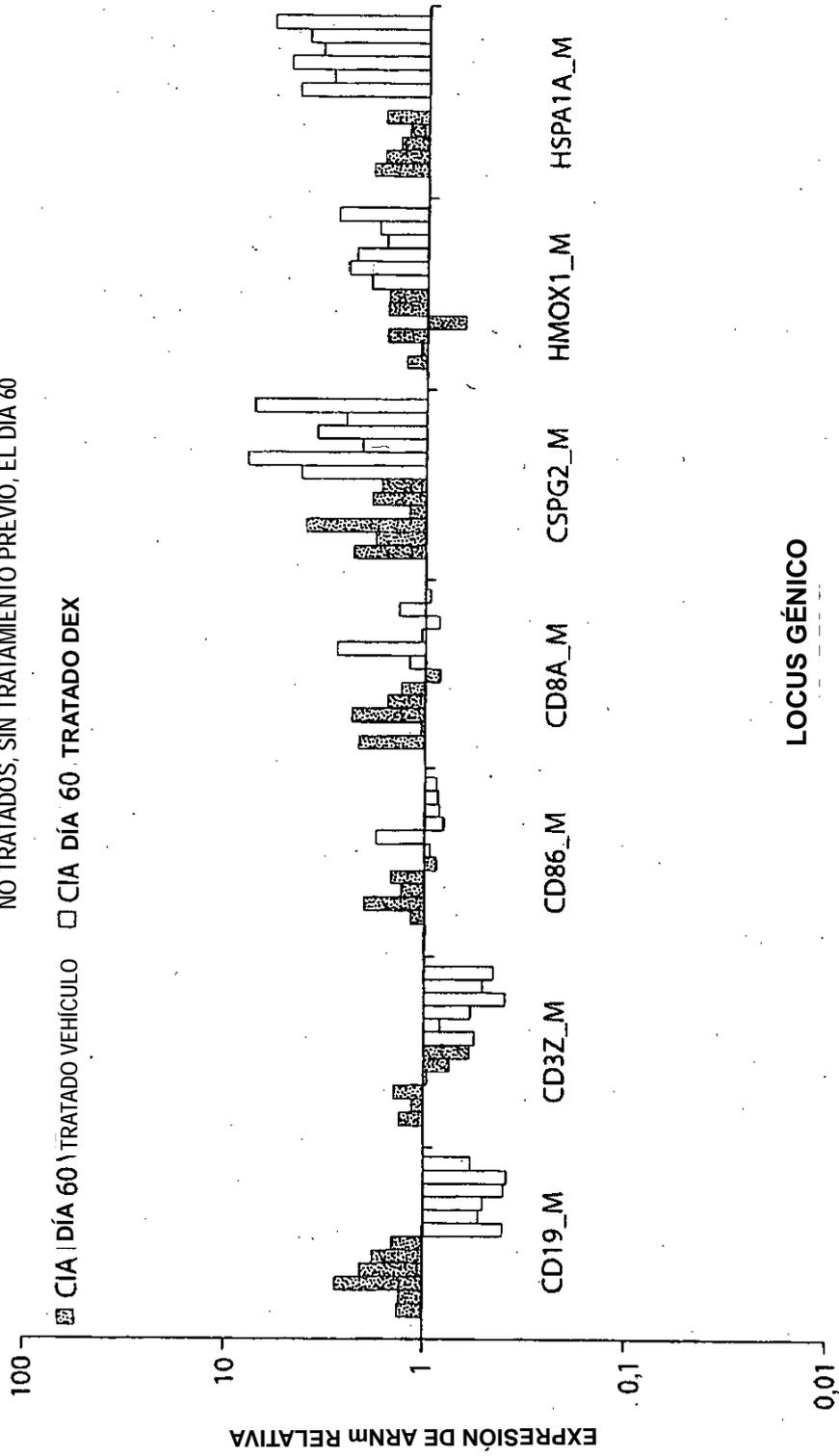
■ CIA DÍA 60 'TRATADO VEHÍCULO □ CIA DÍA 60 TRATADO DEX



LOCUS GÉNICO

Fig. 14A

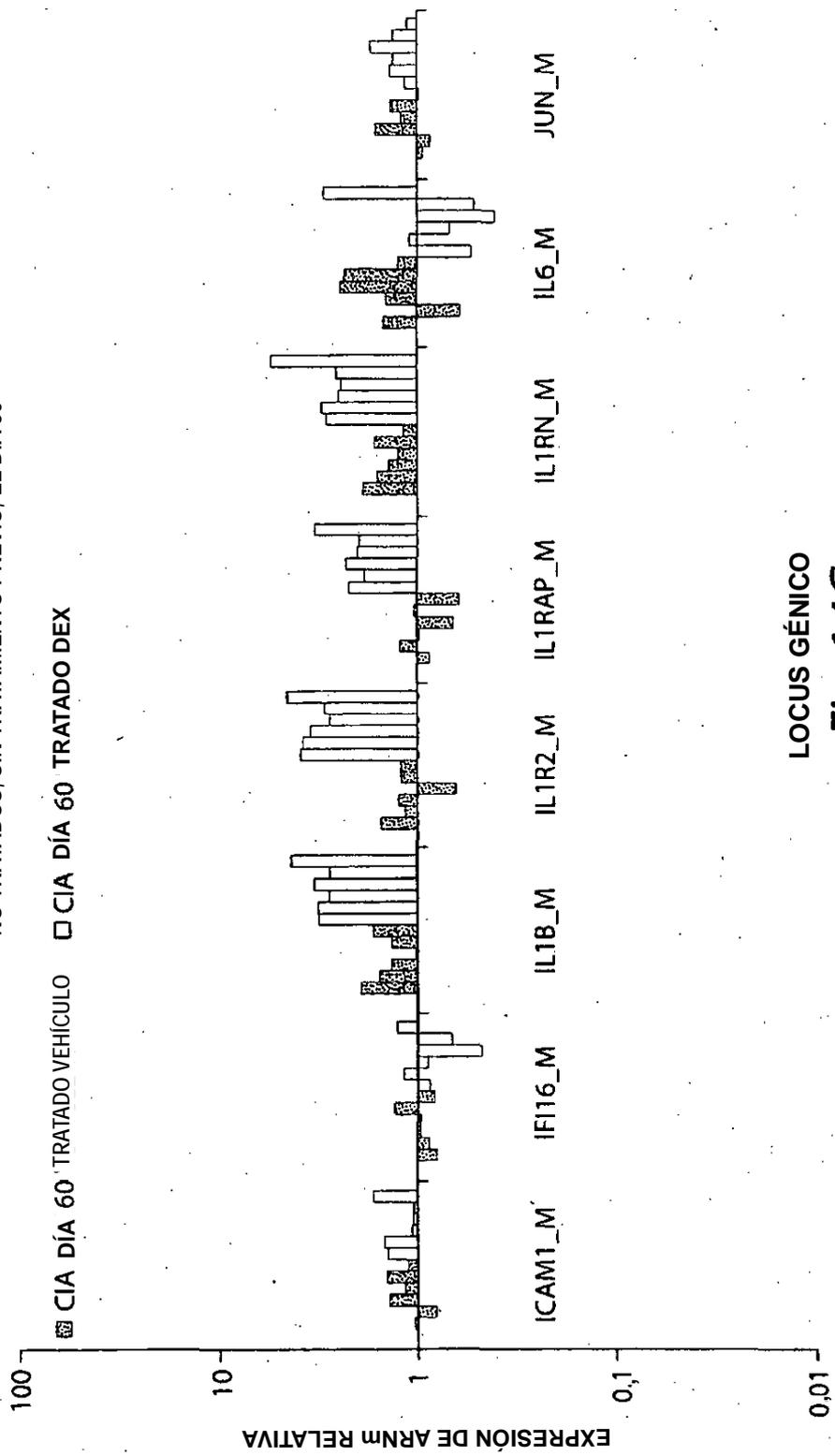
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON VEHÍCULO O DEXAMETASONA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 60



LOCUS GÉNICO

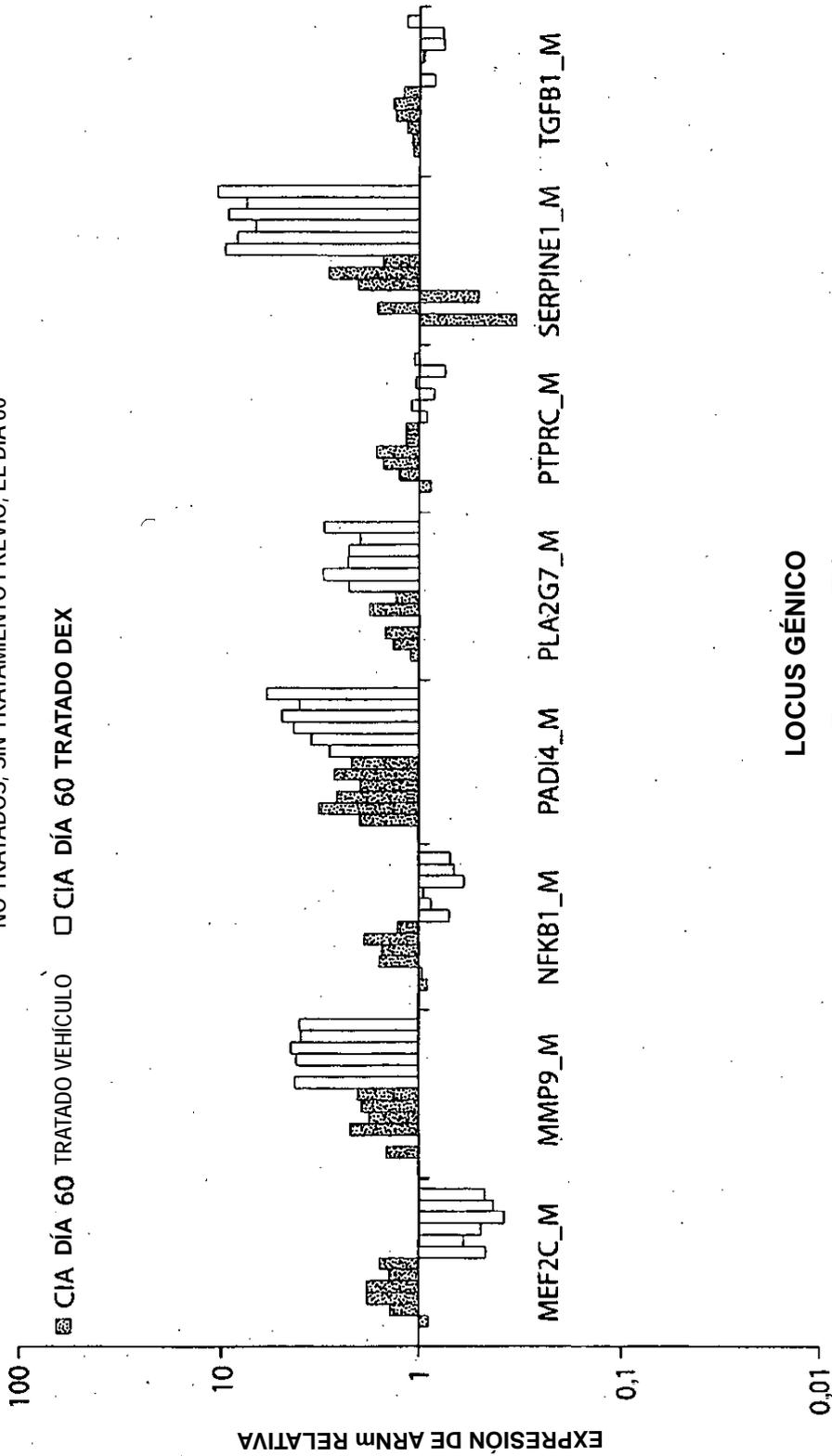
Fig. 14B

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON VEHÍCULO O DEXAMETASONA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 60



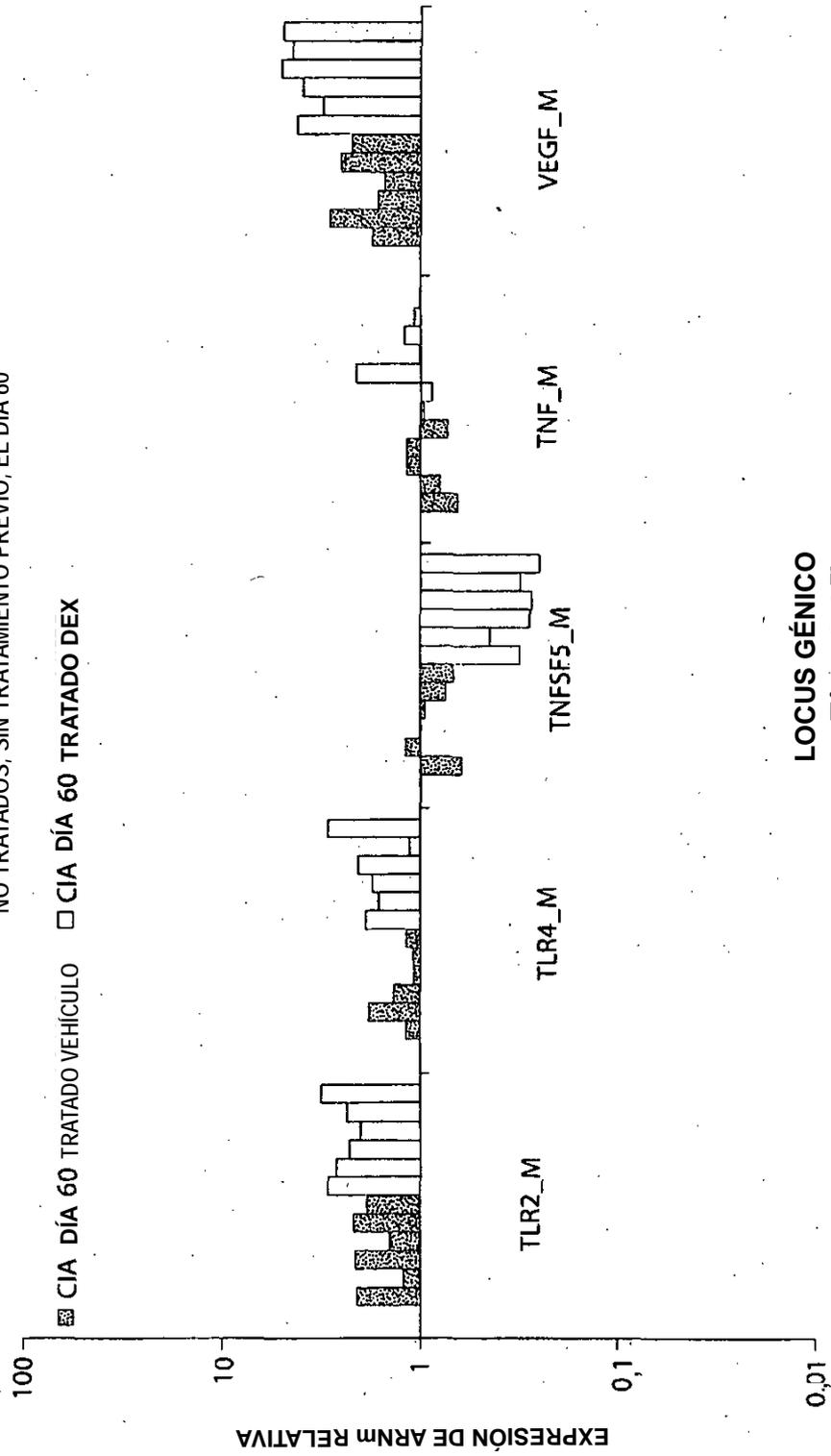
LOCUS GÉNICO
 Fig. 14C

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON VEHÍCULO O DEXAMETASONA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 60



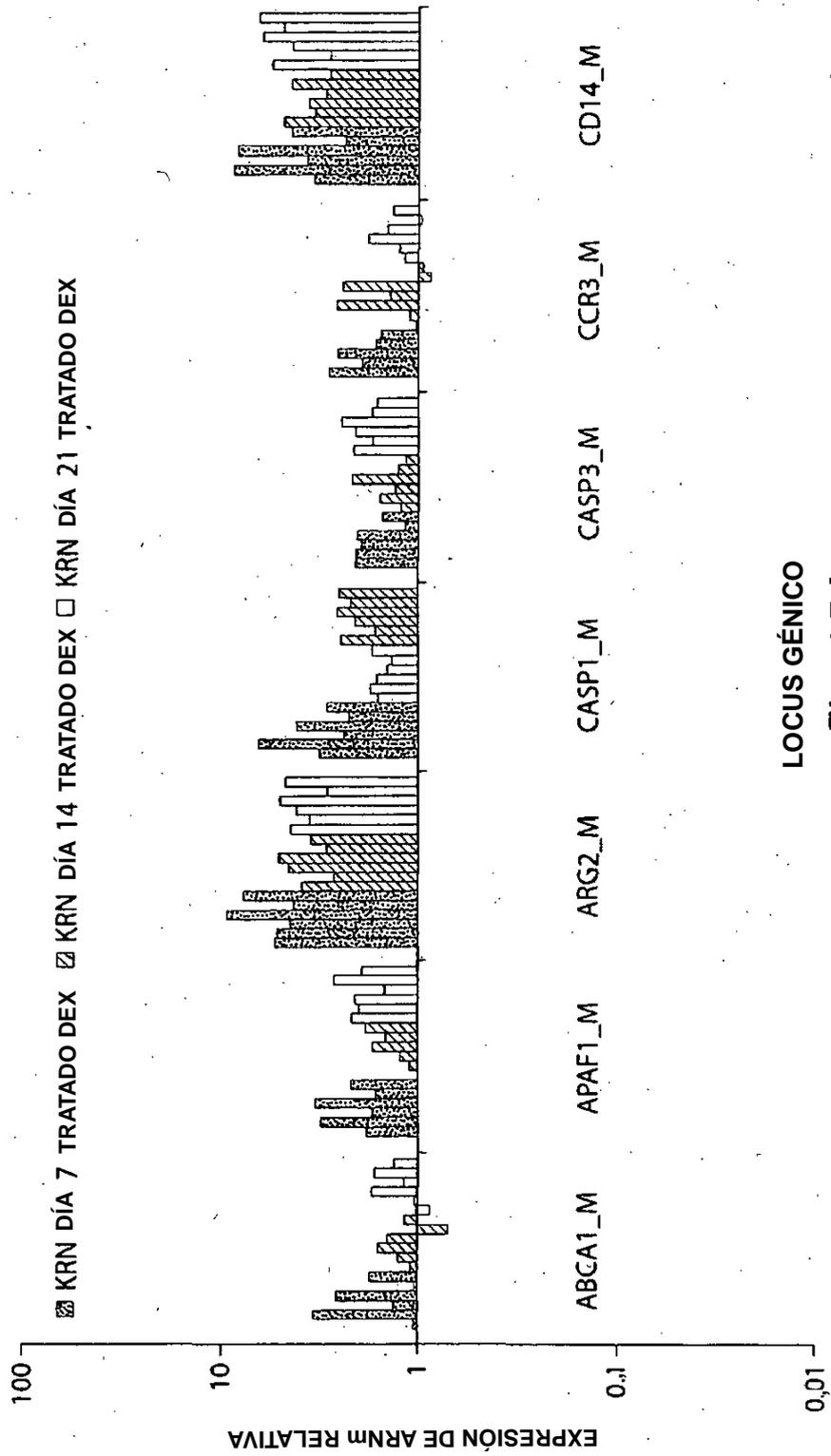
LOCUS GÉNICO
Fig. 14D

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE CIA AL TRATAMIENTO CON VEHICULO O DEXAMETASONA EL DÍA 60 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 60



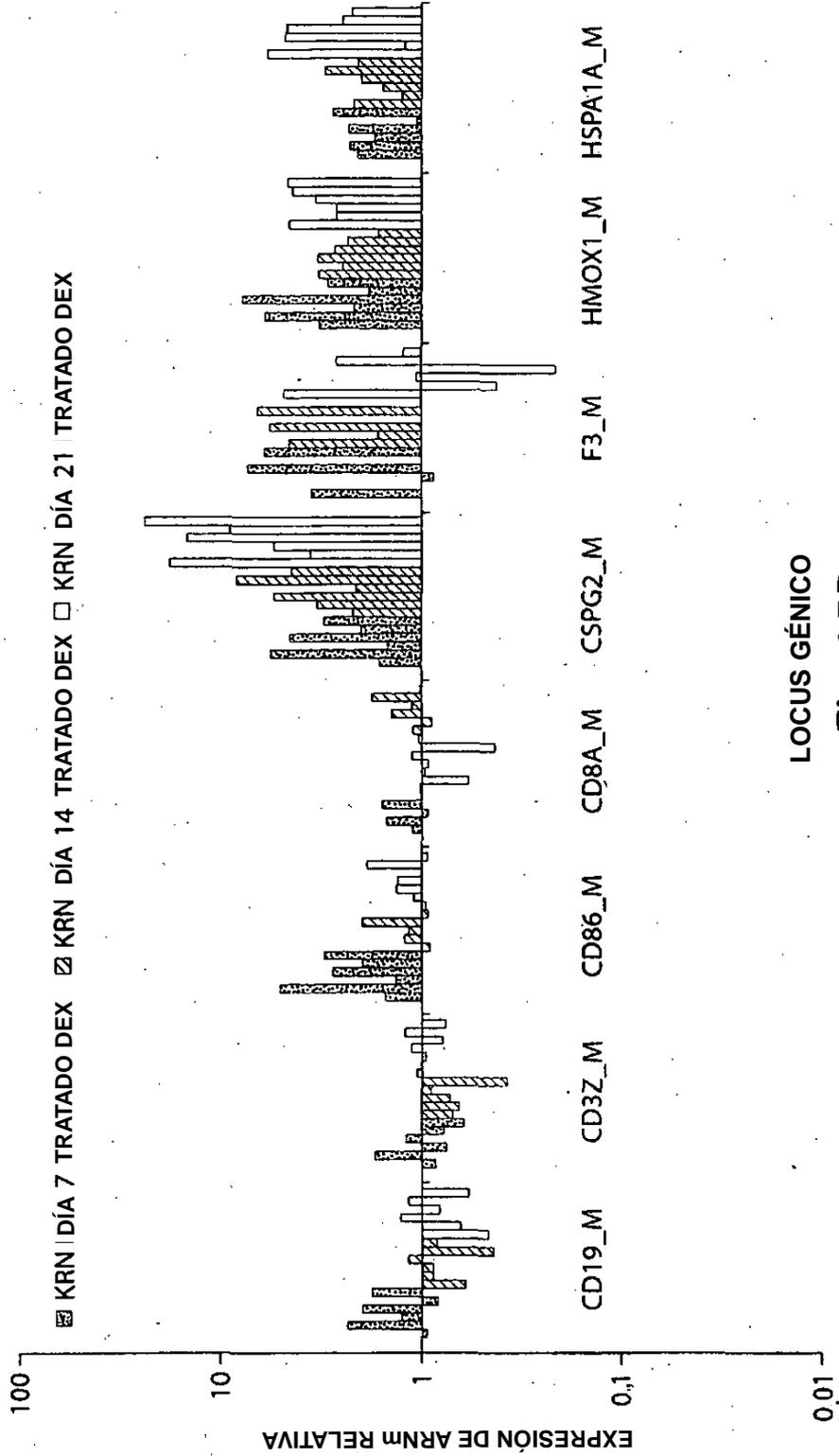
LOCUS GÉNICO
Fig. 14E

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO DEXAMETASONA LOS DÍAS 7, 14 Y 21, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 7, 14 Y 21



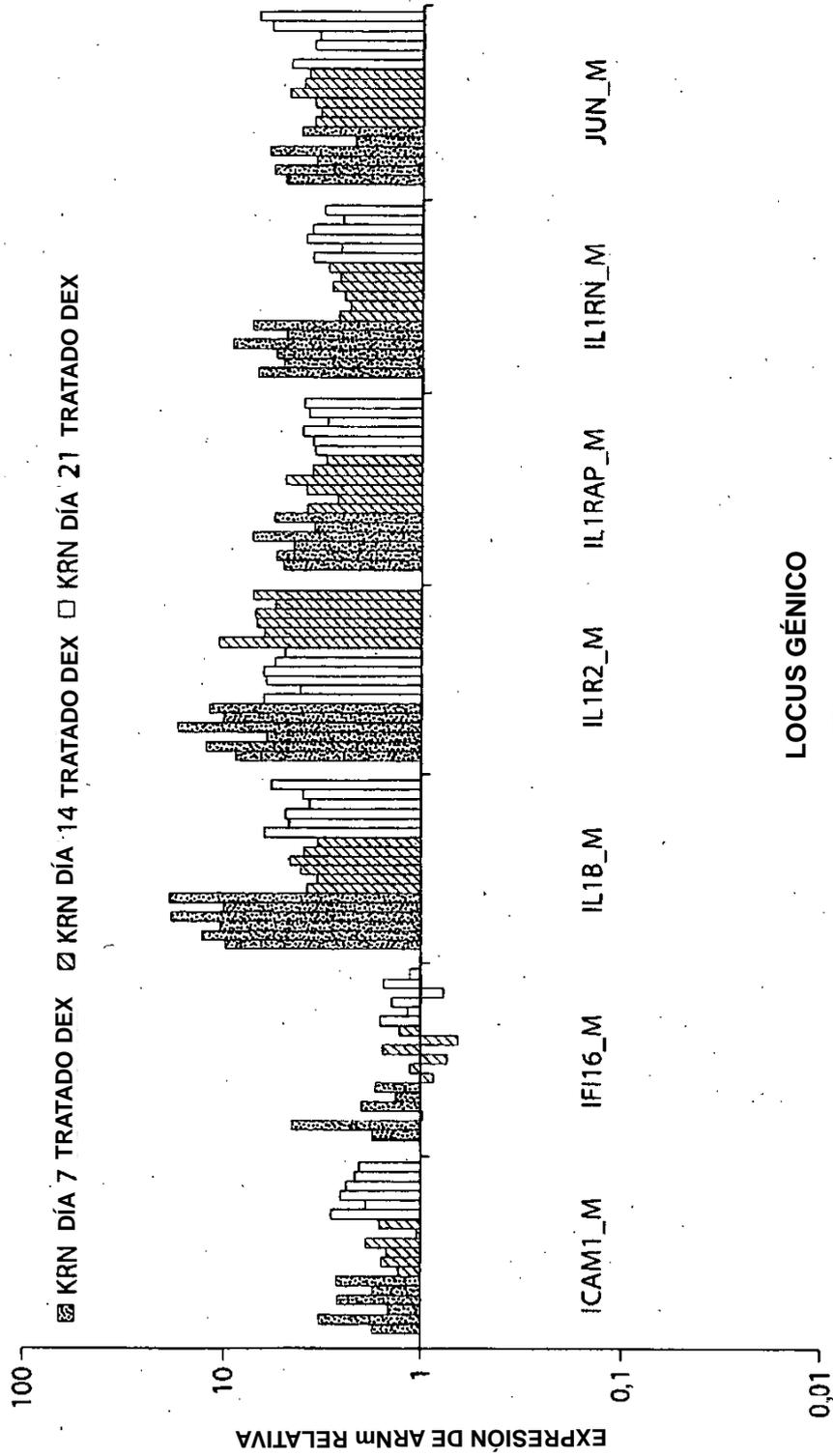
LOCUS GÉNICO
Fig. 15A

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO DEXAMETASONA LOS DÍAS 7, 14 Y 21, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 7, 14 Y 21



LOCUS GÉNICO
 Fig. 15B

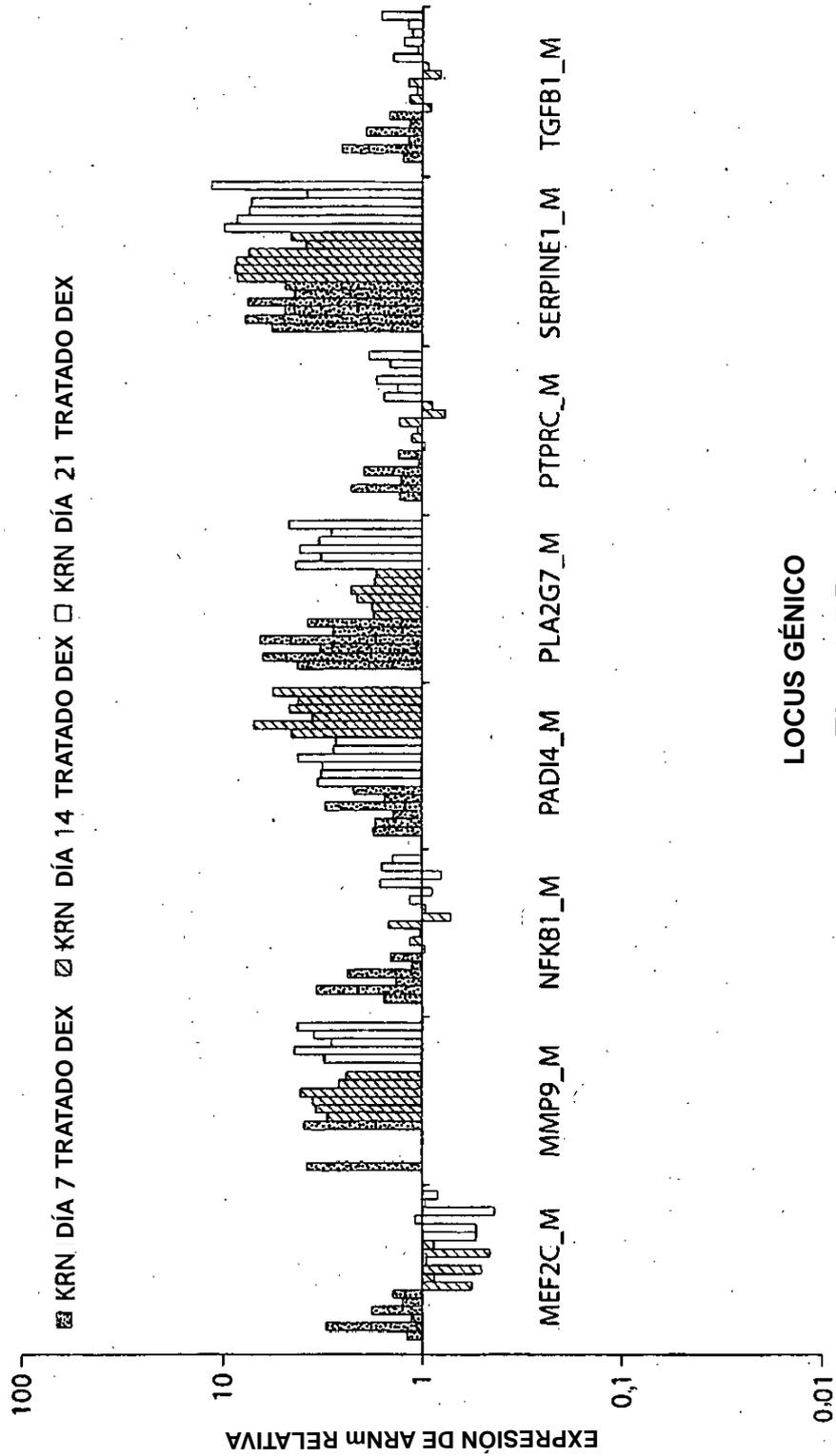
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO DEXAMETASONA LOS DÍAS 7, 14 Y 21, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHICULO LOS DÍAS 7, 14 Y 21



LOCUS GÉNICO

Fig. 15C

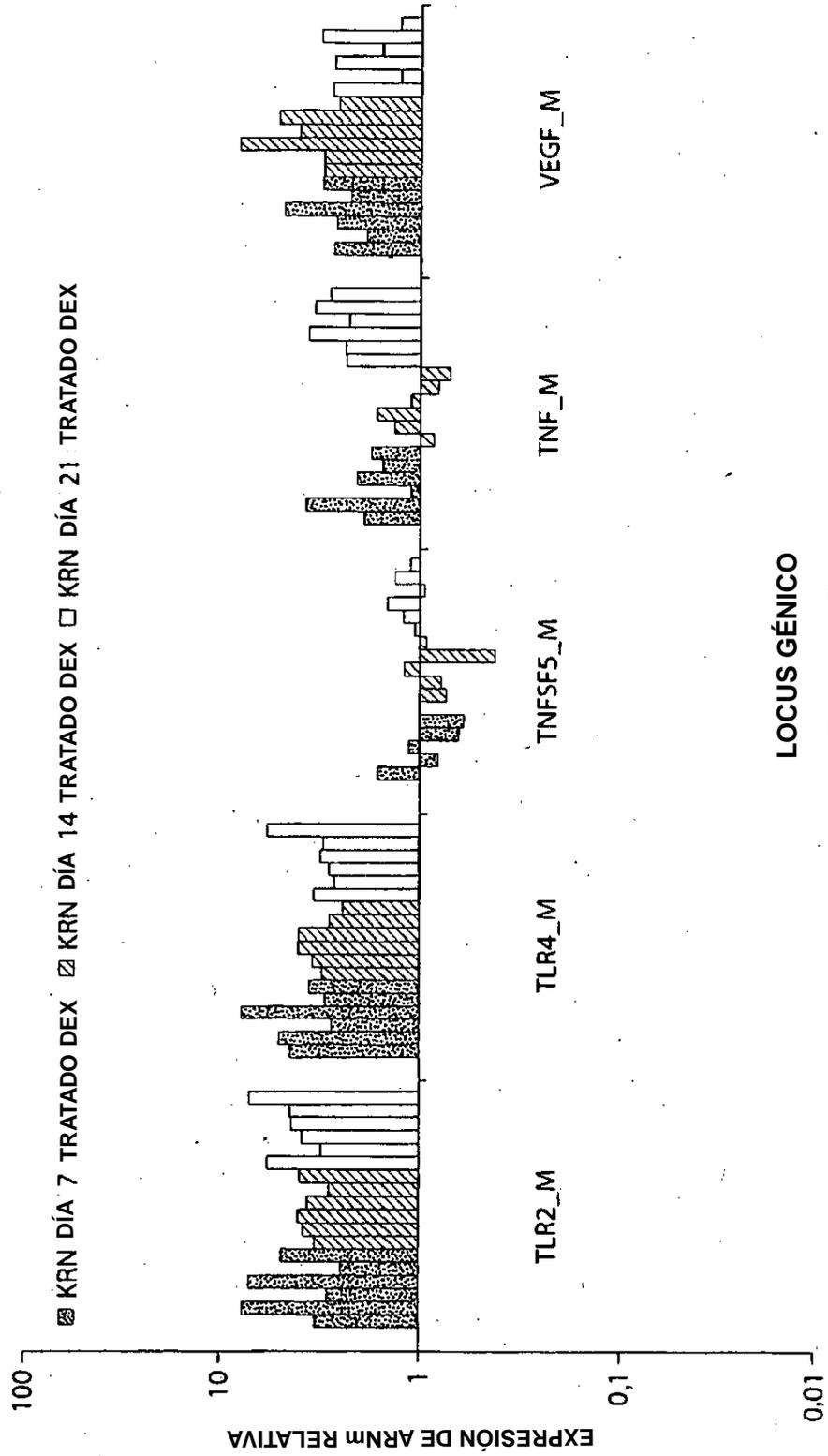
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO DEXAMETASONA LOS DÍAS 7, 14 Y 21, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHICULO LOS DÍAS 7, 14 Y 21



LOCUS GÉNICO

Fig. 15D

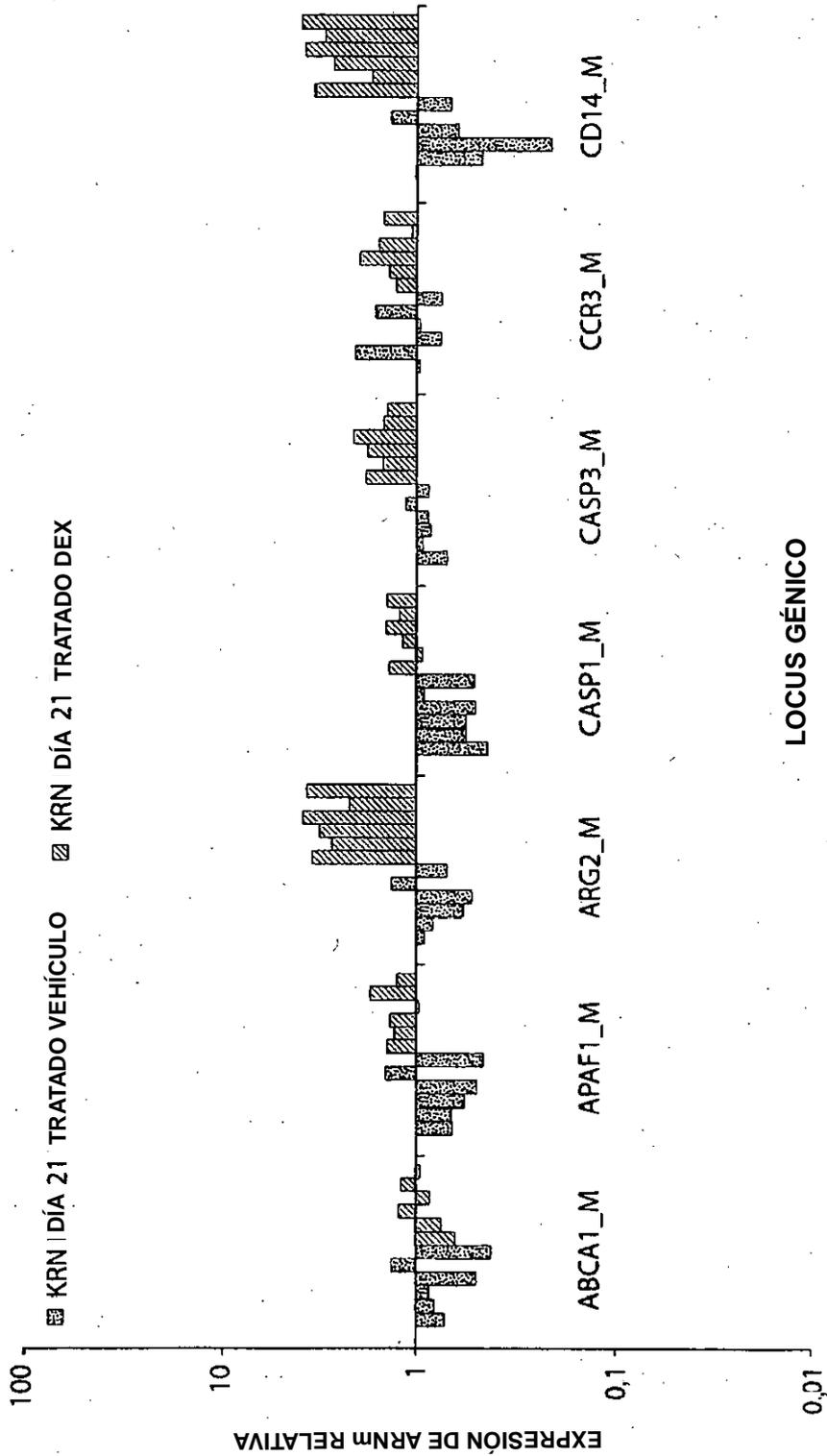
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO DEXAMETASONA LOS DÍAS 7, 14 Y 21, RESPECTO A LAS RESPECTIVAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS TRATADOS CON VEHÍCULO LOS DÍAS 7, 14 Y 21



LOCUS GÉNICO

Fig. 15E

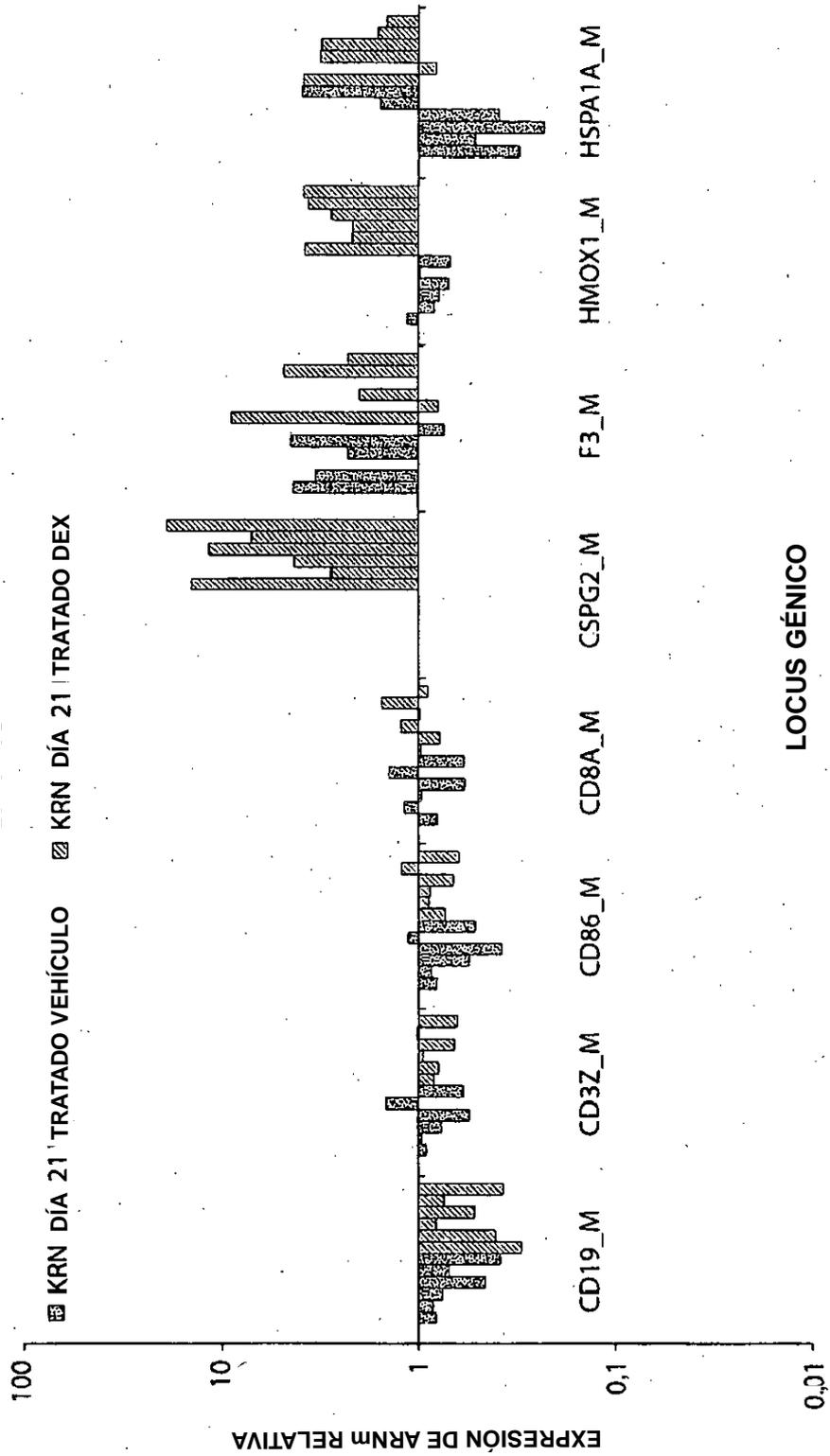
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO CON VEHICULO O DEXAMETASONA EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 21



LOCUS GÉNICO

Fig. 16A

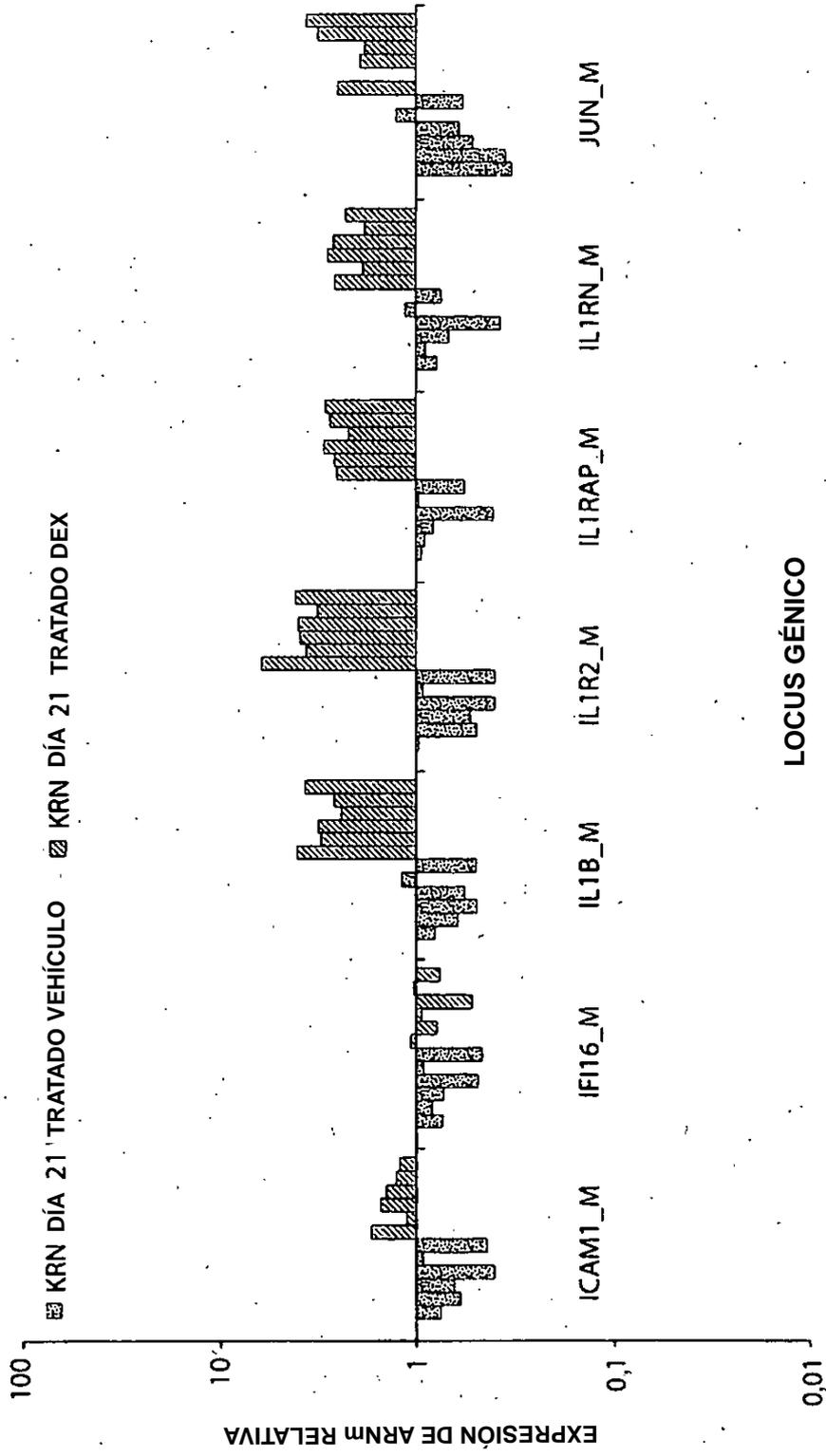
RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO CON VEHÍCULO O DEXAMETASONA EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 21



LOCUS GÉNICO

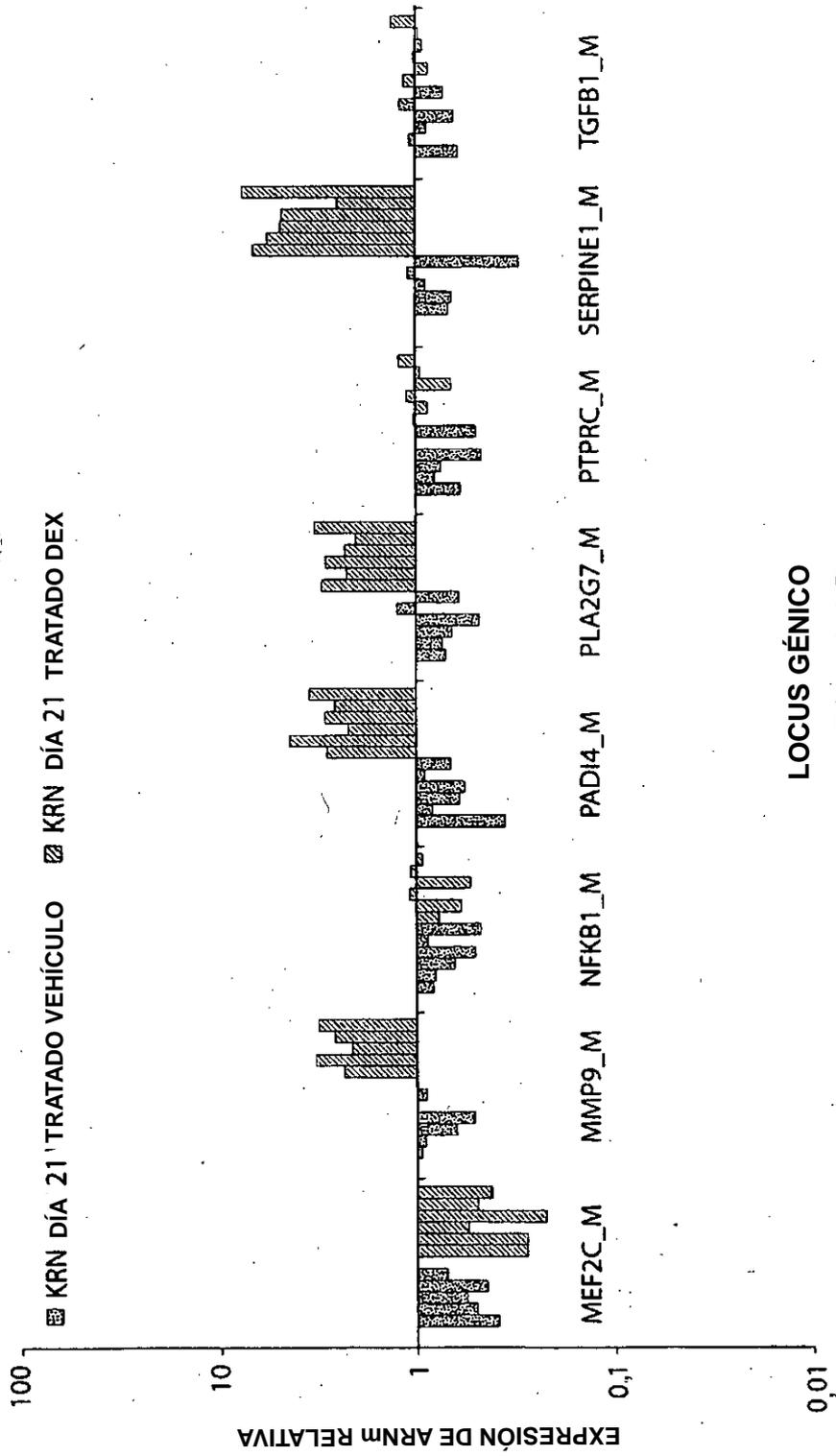
Fig. 16B

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO CON VEHÍCULO O DEXAMETASONA EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 21



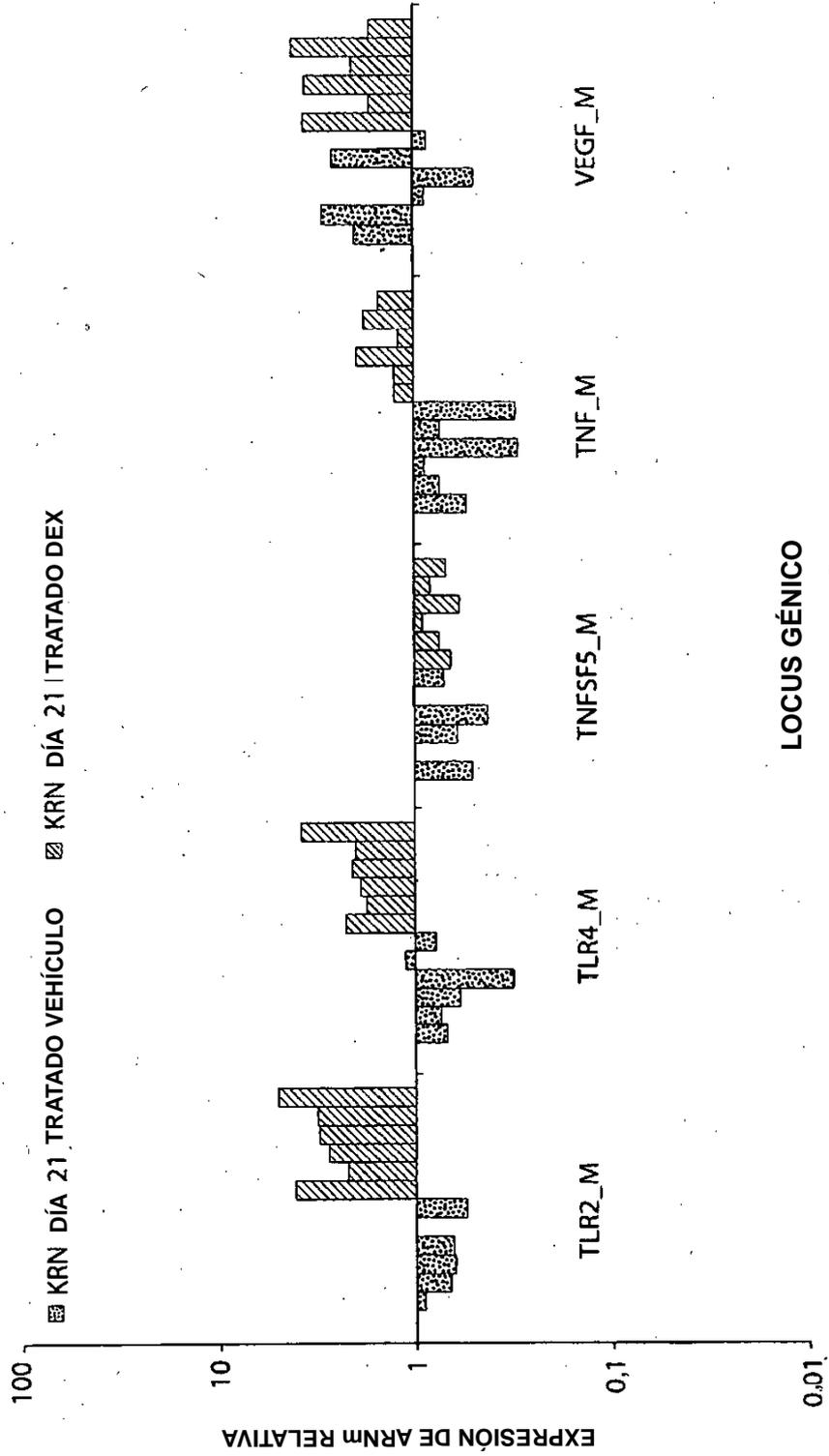
LOCUS GÉNICO
 Fig. 16C

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO CON VEHICULO O DEXAMETASONA EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 21



LOCUS GÉNICO
 Fig. 16D

RESPUESTAS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE SUJETOS MURINOS INDIVIDUALES DEL MODELO DE KRN AL TRATAMIENTO CON VEHÍCULO O DEXAMETASONA EL DÍA 21 RESPECTO A LAS RESPUESTAS MEDIAS DE SUJETOS MURINOS NO TRATADOS, SIN TRATAMIENTO PREVIO, EL DÍA 21



LOCUS GÉNICO
Fig. 16E