(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 548 508**

(51) Int. Cl.:

G06F 19/12 (2011.01)
G06F 19/24 (2011.01)
A61B 5/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.05.2010** **E 10779928 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.07.2015** **EP 2435825**

(54) Título: **Métodos de tratamiento de enfermedades**

(30) Prioridad:

27.05.2009 US 181508 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.10.2015

(73) Titular/es:

BIOTEMPUS LIMITED (100.0%)
Level 1, 545 King St
West Melbourne VIC 3003, AU

(72) Inventor/es:

ASHDOWN, MARTIN LEONARD y
ROBINSON, ANDREW

(74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 548 508 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

Métodos de tratamiento de enfermedades

Campo de la invención

La presente invención se refiere a métodos implementados por ordenador y un sistema para el análisis de un biomarcador que fluctúa en un sujeto. En algunos otros aspectos, la presente invención se refiere al análisis de un biomarcador que al menos inicialmente aumenta o disminuye en cantidad en un sujeto después de un tratamiento para una enfermedad. En otros aspectos, la presente invención se refiere a métodos y sistemas implementados por ordenador para determinar un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar una enfermedad en un sujeto. La presente invención se refiere también a un producto de un programa informático para implementar los métodos. Además, la presente invención se refiere a métodos para determinar el tiempo de tratamiento de una enfermedad en un sujeto en el que el sistema inmunológico está fluctuando.

Antecedentes de la invención

Células T reguladoras

Los estudios han identificado la existencia de una población de origen natural de células T reguladoras / supresoras, que, tras la estimulación in vitro mediada por TCR, inhiben la proliferación de células T efectoras (von Herrath y Harrison, 2003; Allan y colaboradores, 2008; Brusko y colaboradores, 2008; Vila y colaboradores, 2009). Estas células son fundamentales para el control de la homeostasis de células T y en la modulación de respuestas inmunes a los autoantígenos, células cancerosas, patógenos, y aloantígenos.

En la periferia de ratones jóvenes no propensos a enfermedades autoinmunes, las células T reguladoras constituyen un 10% estable de las células T $CD4^+$. Esta proporción parece estar reducida en los ratones genéticamente propensos a una enfermedad autoinmune como la diabetes (Salomon y colaboradores, 2000). Se ha demostrado que la transferencia de células T reguladoras previene una amplia gama de enfermedades autoinmunes experimentales, incluyendo la diabetes, la encefalomielitis autoinmune experimental, y la colitis (Salomon y colaboradores, 2000; Wu y colaboradores, 2002; Kohm y colaboradores, 2002; Read y colaboradores, 2000). Además, se ha demostrado que el agotamiento de las células T reguladoras exacerba varias enfermedades autoinmunes experimentales, incluyendo la artritis inducida por colágeno. En los seres humanos, se ha identificado una población análoga de células T reguladoras CD4+CD25+ en la sangre periférica y el timo (Jonuliet y colaboradores, 2001; Annunziato y colaboradores, 2002).

Las enfermedades autoinmunes

Muchos trastornos autoinmunes surgen cuando las células de tejidos específicos se convierten en el blanco de los linfocitos T (para revisión ver Santamaría, 2001; Vila y colaboradores, 2009). Mucho de lo que se sabe actualmente sobre las vías efectoras de autoinmunidad ha sido aprendido a partir de modelos espontáneos y experimentales de una enfermedad autoinmune. La diabetes mellitus tipo 1 (T1D) en ratones diabéticos no obsesos (NOD) es un modelo prototípico de autoinmunidad espontánea específica de órganos. Los ratones NOD desarrollan espontáneamente una forma de diabetes autoinmune, que se asemeja estrechamente a la T1D humana, que resulta de la destrucción de las células β pancreáticas por los linfocitos T.

Los estudios de ratones NOD deficientes en células T CD8+ indican que el ataque inicial de células β en T1D es efectuado por células T citotóxicas CD8+. Varios modelos transgénicos de T1D han demostrado que las células T CD8+ pueden matar fácilmente células β que expresan neo-antígenos transgénicos; sin embargo, poco se sabe acerca de la especificidad antigénica o especificidades de las células T CD8+ que matan a las células β en ratones NOD. Wong y colaboradores (1999) han reportado de que existe una subpoblación de células T CD8+ que reconoce un péptido derivado de la insulina en los islotes de ratones NOD jóvenes. Además, los estudios inmunopatológicos de páncreas de individuos diabéticos humanos y de receptores de isoinjerto de páncreas han sugerido que la destrucción de las células β en T1D humano también puede ser efectuada, al menos en parte, por células T efectoras CD8+ (Bottazzo y colaboradores, 1985).

La encefalomielitis autoinmune experimental (EAE) es una enfermedad autoinmune experimental prototípica que modela la esclerosis múltiple humana y que se desarrolla en cepas de roedores susceptibles después de la inmunización con proteína básica de mielina, proteína oligodendrocítica de mielina (MOG) o antigénica proteolipídica. La evidencia sugiere que las células T CD8+ juegan un papel en el progreso y severidad de la enfermedad (revisado por Goverman, 1999). La proteína básica de mielina se procesa *in vivo* por la vía de MHC de clase I, y un péptido derivado de MOG activa *in vivo* las células T CD8+ encefalitogénicas. También hay evidencia de expansiones clonales de las células T CD8+ en las lesiones de esclerosis múltiple activa (Babbe y colaboradores, 2000).

Enfermedad injerto contra huésped

La enfermedad de injerto contra huésped es un proceso de múltiples pasos. Se ha demostrado que las células T efectoras juegan el papel central en la inducción de la enfermedad. Durante la 'fase de inducción', las células T efectoras se observan disparidades aloantigénicas y luego se activan y se expanden en forma clonal (la 'etapa de expansión'). Estas células T luego liberan citoquinas y posiblemente quimiocinas (por ejemplo la proteína inflamatoria 1α de macrófagos), lo que resulta en el reclutamiento de otros tipos de células (macrófagos, granulocitos, células asesinas naturales, etc.) en la 'fase de reclutamiento'. Finalmente, las células T y los otros tipos de células median la patología asociada con la enfermedad de injerto contra huésped (la 'fase efectora') (para una revisión ver Murphy y Blazar, 1999).

Ha habido un énfasis en el delineamiento de los mecanismos efectores de la enfermedad de injerto contra huésped. Las células T y otras células median principalmente sus funciones efectoras ya sea a través de FasL, perforina - granzima B o TNF. El uso de ratones modificados por ingeniería genética ha demostrado un papel fundamental para cada una de estas vías en la etapa efectora de la enfermedad injerto contra huésped. FasL y perforina - granzima B aparecen críticas para la patología de órganos sólidos mientras que TNF parece mediar la pérdida de peso / debilitamiento asociados con la enfermedad de injerto contra huésped. El TNF también parece ser inducido, junto con otras citoquinas, después del acondicionamiento (Hill y colaboradores, 1997), lo que demuestra que las citoquinas producidas ya sea por el donante o el receptor afectan a la enfermedad de injerto contra huésped. Se ha demostrado que los ratones modificados por ingeniería genética receptores de TNF y el uso de anticuerpos anti-TNF son protectores en modelos de enfermedad injerto contra huésped (Speiser y colaboradores, 1997).

Cáncer

En el pasado, se han hecho intentos para activar el sistema inmunológico para montar una respuesta eficiente contra las células malignas. A pesar de un progreso significativo y prometedor, tal respuesta aún no se ha alcanzado plenamente, y muchas terapias con base inmunológica han sido decepcionantes.

Numerosos estudios que utilizan en ensayos celulares *in vitro* demuestran que los linfocitos citotóxicos tienen la capacidad de matar las células tumorales. El paciente con cáncer también ha aumentado la concentración de complejos inmunes circulantes, indicando que el sistema inmune está activo, en particular contra ciertos antígenos tumorales. El nivel de estos complejos inmunes puede aumentar con la progresión de la enfermedad (Horvath y colaboradores, 1982; Aziz y colaboradores, 1998).

Las células T reguladoras han sido implicados en la respuesta inmune de un sujeto con cáncer (Norte y Awwad, 1990; Gajewski y colaboradores, 2009). Como la mayoría de los antígenos del cáncer son realmente producidos por el paciente, son considerados como "propios" por el sistema inmune. Por la presencia, y/o aumento de la cantidad de antígeno tumoral, el sistema inmune del huésped monta una respuesta caracterizada por la producción de células T efectoras que se dirigen a las células que producen el antígeno tumoral. Sin embargo, en muchos casos estas células T efectoras son reconocidas por el sistema inmune como objetivos de las propias células del huésped, y por lo tanto se produce una población de células T reguladoras para subregular la población de células T efectoras. De este modo, la producción de estas células T reguladoras limita la capacidad del sistema inmune para eliminar eficazmente las células cancerosas.

Enfermedades degenerativas

Aunque las enfermedades degenerativas como la enfermedad de Alzheimer no son consideradas clásicamente por estar mediadas por inflamación o por el sistema inmune, en algunos casos el sistema inmune puede desempeñar un papel importante en el proceso degenerativo. Además, ha quedado claro que el sistema inmune en sí puede tener efectos beneficiosos en enfermedades del sistema nervioso consideradas como degenerativas. Se han desarrollado recientemente enfoques inmunoterapéuticos diseñados para inducir una respuesta inmune humoral para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. En modelos animales, también se ha demostrado que la inmunoterapia diseñada para inducir una respuesta inmune celular puede ser beneficiosa en una lesión del sistema nervioso central, aunque las células T pueden tener ya sea un efecto beneficioso o perjudicial dependiendo del tipo de respuesta inducida por las células T (Monsonego y Weiner, 2003).

Infecciones

Más recientemente, se ha demostrado que las células T reguladoras están involucradas en la respuesta inmune de un sujeto a una infección viral. La publicación internacional WO 02/13828 describe la producción de células T reguladoras durante una infección retroviral, y métodos de tratamiento para tales infecciones mediante subregulación de la población de células T reguladoras manteniendo al mismo tiempo la población de células T efectoras. Desde que se presentó el documento WO 02/13828 ha habido un gran número de estudios que han identificado un papel para las células T reguladoras en la progresión de infecciones retrovirales crónicas. Esto incluye estudios sobre la infección por retrovirus de Friend (Iwashiro y colaboradores, 2001), el virus de la inmunodeficiencia felina (Vahlenkamp y colaboradores, 2004), virus de la inmunodeficiencia del simio (Hryniewicz y colaboradores, 2006; Estes y colaboradores, 2007) y muchos estudios sobre el VIH (Weiss y colaboradores, 2004; Kinter y colaboradores, 2004; Lim y colaboradores, 2006; Nilsson y

colaboradores, 2006; Kinter y colaboradores, 2007a;. Kinter y colaboradores, 2007b; Lim y colaboradores, 2007; Cao y colaboradores, 2009). El papel de las células T reguladoras en la progresión de infecciones retrovirales crónicas también ha sido objeto de muchas revisiones recientes, incluyendo aquellas de Vahlenkamp y colaboradores (2005), Belkaid y Rouse (2005), Rouse y colaboradores (2006) y Dittmer (2004).

Tratamiento de enfermedades que implican células T efectoras y reguladoras

Tomando ventaja de que las células T reguladoras ha estado complicadas por la incapacidad de ampliar y caracterizar este pequeño subconjunto de células T, se redujo aún más una población de células en los animales y pacientes propensos autoinmunes. Por ejemplo, los estudios han sugerido que puede ser imposible revertir la diabetes autoinmune en curso debido a que las células T autorreactivas se vuelvan resistentes a la supresión durante la fase activa de la enfermedad. Los esfuerzos anteriores para expandir las células T reguladoras *ex vivo* no han logrado una expansión clínicamente suficiente, ni una eficacia demostrable *in vivo*. El bajo número de células T reguladoras CD4+ CD25+, su fenotipo anérgico y diversa especificidad antigénica presentan grandes desafíos para el aprovechamiento de esta población tolerogénica potente para tratar enfermedades autoinmunes y el rechazo de trasplantes.

La publicación internacional WO 03/070270 describe el uso de marcadores inflamatorios de fase aguda en los regímenes para el tratamiento eficaz del VIH. Estos métodos se basan al menos parcialmente en "reiniciar" el sistema inmune por un tratamiento tal como HAART seguido por el análisis de proteínas inflamatorias de fase aguda como marcadores para la expansión de las células T efectoras y reguladoras. La aparición de proteínas inflamatorias en la fase aguda parece estar vinculada a la expansión de células T efectoras, que se produce antes de la expansión de las células T reguladoras, y por lo tanto el paciente puede ser tratado con un agente adecuado que permite que la población de células T efectoras se mantenga mientras destruya, evita la producción o la reducción de la actividad de las células T reguladoras. En esencia, tras la retirada del tratamiento HAART se consideró que el sistema inmunológico del paciente trataría las partículas de VIH que vuelven a aparecer como una nueva infección, y por lo tanto se produciría una nueva población de células T efectoras.

Similar a la publicación internacional WO 03/070270, la publicación internacional WO 03/068257 se refiere al menos parcialmente al reinicio del sistema inmunológico, sin embargo, en este caso, en el contexto del tratamiento del cáncer. Una vez más, el tratamiento se centra en la nueva aparición inicial de las células T efectoras después de una reducción de la carga tumoral a través de técnicas tales como cirugía o la administración de fármacos antiproliferativos.

Después de los avances descritos en los documentos WO 02/13828, WO 03/070270 y WO 03/068257, más tarde se encontró, sorprendentemente, que el sistema inmune está fluctuando en muchos estados de enfermedades crónicas tales como el cáncer, las infecciones retrovirales (en ambos en el documento WO 05/040816) y enfermedades autoinmunes (WO 06/026821). Por lo tanto, no es esencial que el estado de enfermedad sea "reiniciado" para que sea capaz de dirigir a las células T reguladoras para tratar eficazmente las enfermedades que implican a las células T reguladoras tales como el cáncer. A pesar de los avances revolucionarios descritos en los documentos WO 05/040816 y WO 06/026821, las variaciones entre individuos, las variaciones en las pruebas de la muestra, y la complejidad de los estados de la enfermedad hacen que sea difícil manejar los datos que permitan la selección rutinaria del tipo celular deseado en el primer intento. Por lo tanto, existe la necesidad de mecanismos para aumentar la probabilidad de tratar eficazmente una enfermedad en la cual el sistema inmune está fluctuando en el(los) intento(s) inicial(es).

Resumen de la invención

De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención proporciona un método implementado por ordenador para el análisis de un biomarcador que fluctúa en un sujeto con una enfermedad, para determinar un tiempo preferido en el futuro para administrar una terapia para tratar dicha enfermedad, comprendiendo el método la estimación de una periodicidad de las fluctuaciones del biomarcador con base en las mediciones del biomarcador en las muestras del sujeto mediante la obtención de una curva con el mejor ajuste para las mediciones de acuerdo con un modelo de las fluctuaciones del biomarcador, en donde el modelo es una técnica de regresión periódica; y determinar a partir de la periodicidad estimada de las fluctuaciones, un tiempo preferido en el futuro para administrar una terapia para tratar la enfermedad en el sujeto mediante la proyección de la curva de mejor ajuste obtenida en el futuro.

Las mediciones del biomarcador pueden ser recibidas a través de una red de comunicaciones, o recuperadas de un sitio de almacenamiento remoto o local.

El modelo de la periodicidad del biomarcador que fluctúa puede ser en algunas realizaciones de la forma:

$$\textbf{log (marcador}_i\textbf{) = cos (2}\pi\textbf{ x ((tiempo}_i\textbf{, - desfase (}\textit{offset}\textbf{)) / (período)) x amplitud + media + }\varepsilon_i$$

donde marcador$_i$, es una medida tomada en el tiempo$_i$, y los parámetros de desfase, período, amplitud, media y el error del modelo o ε_i residual son desconocidos. Preferiblemente, los errores del modelo se distribuyen normalmente con una media de cero y una varianza constante pero desconocida, o de una de la familia de distribuciones t con grados de

libertad como los determinados por el mecanismo de ajuste del modelo.

Por ejemplo, cuando las mediciones son mediciones de CRP obtenidas con una especificidad de tiempo de un día, el modelo puede ser de la forma:

$$\log(CRP_i) = \cos\left(2\pi \times \frac{\text{día}_i - \text{desfase}}{\text{período}}\right) \times \text{amplitud} + \text{media} + \varepsilon_i,$$

donde CRP_i, es una medida de CRP tomada el día_i, los parámetros de desfase, período, amplitud, media y el error del modelo o residual ε_i son desconocidos

El método comprende la proyección de la curva de mejor ajuste obtenida en el futuro para determinar el tiempo preferido en el futuro para administrar la terapia. La curva de mejor ajuste puede ser ajustada con un modelo armónico de las fluctuaciones del biomarcador. En este caso, la obtención de la curva de mejor ajuste comprende además ajustar el modelo armónico a las mediciones varias veces utilizando diferentes condiciones iniciales para cada ajuste. Por ejemplo, cuando el modelo armónico incluye el período como un parámetro, el valor inicial del período se puede alterar para cada ajuste con el fin de generar diferentes resultados de mejor ajuste. En una realización, diferentes estimaciones iniciales del período de fluctuación, tales como, pero no limitado a, aproximadamente 3 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 7 días o aproximadamente 9 días. Cuando las curvas así generadas son diferentes, se puede inferir menor confianza en los resultados de mejor ajuste. Esto puede incluir al menos dos, y preferiblemente tres curvas bajo diferentes modelos de regresión para el único conjunto de datos. En tales realizaciones, una similitud o disparidad del resultado de mejor ajuste de cada modelo de regresión se usa preferiblemente para generar una medida de confianza para indicar una confianza en el modelo que tiene la probabilidad logarítmica más alta.

Por lo tanto, en otra realización, el método comprende además la generación de una medida de confianza mediante la comparación de una similitud en un resultado de ajuste producido por cada ajuste. Por otra parte, en el reconocimiento de la dificultad de extraer una característica periódica de un pequeño número de mediciones, tales como siete mediciones de ruido diarias, tales formas de realización de la presente invención proporcionar no sólo un método para analizar estos datos de una forma que produzca una curva periódica estimada de mejor ajuste, pero que también proporcione una indicación de la confianza en la estimación.

La obtención de una curva de mejor ajuste puede comprender además la imposición de una restricción de caja en al menos algunos de los parámetros del modelo para guiar la optimización de las regiones biológicamente realistas. En algunas realizaciones, un algoritmo de optimización se aplica repetidamente utilizando niveles alterados de grados de libertad, para permitir diferente tolerancia a los valores atípicos de datos. Se puede escoger luego un modelo ajustado con la probabilidad logarítmica más alta para cada condición inicial para la comparación con un modelo ajustado obtenido usando una condición inicial nominativa alternativa. En este caso, se puede asumir un acuerdo estrecho entre los modelos ajustados elegidos para mejorar la confianza en la estimación de la fluctuación subyacente.

Se puede determinar una transformación variación de la estabilización de la varianza de las mediciones antes de la estimación de la periodicidad con base en las mediciones transformadas. Al tomar una transformación de estabilización de la varianza de las mediciones, se consideran la naturaleza ruidosa de las mediciones del biomarcador y la amplitud no constante en los biomarcadores que fluctúan.

Cualquier transformación adecuada de estabilización de la varianza de las mediciones puede ser utilizada, tal como el logaritmo de las mediciones. La transformación tomada puede ser la identidad, la raíz cuadrada, el logaritmo natural, el logaritmo en base 10, cualquier otra transformación de la escala de potencias, o similares. La transformación será preferiblemente el logaritmo natural y la exposición que sigue asumirá que esto ha sido realizado. Tomando nota de que al menos algunos biomarcadores, por ejemplo, los niveles de proteína C reactiva (CRP), se miden como una concentración, las mediciones negativas no son posibles de manera que siempre se puede tomar en tales realizaciones la transformación de estabilización de la varianza.

La determinación de la hora preferida para administrar la terapia puede comprender además la comparación de las mediciones del sujeto con una base de datos de las mediciones del biomarcador obtenidas a partir de otros sujetos que tenían la enfermedad y han sido tratados con una terapia. La terapia usada para tratar a los "otros sujetos" puede ser la misma o diferente a aquella planeada para ser administrada al sujeto, preferiblemente la misma. Por otra parte, no todos los "otros sujetos" pueden haber sido tratados con la misma terapia, por ejemplo, exactamente el mismo fármaco antiproliferativo.

Las mediciones también pueden ser para dos o más biomarcadores diferentes que fluctúan en el sujeto, en cuyo caso el método comprende determinar el momento de administración preferida por referencia a dos o más conjuntos de mediciones. Esto puede proporcionar una mayor precisión de la estimación del sistema inmune que fluctúa comparado con realizaciones en las cuales en las cuales se confía en las mediciones de un solo biomarcador. De forma alternativa

o adicionalmente, se toman dos o más tipos diferentes de mediciones para el mismo biomarcador. Por ejemplo, mediciones diarias o varias durante el transcurso del día de un marcador de fase aguda pueden ser tomadas de una muestra por punción en el dedo utilizando la punta acoplada de un dispositivo médico portátil de control y calibrada por mediciones menos frecuentes, pero más precisas obtenidas mediante un examen detallado de la muestra tal como realizado por un laboratorio profesional.

El modelo puede tener una cola pesada para permitir la naturaleza ruidosa de las mediciones, tal como mediante la aplicación de regresión no lineal utilizando probabilidad máxima y asumiendo una distribución de error de cola más pesada. En esta realización, la regresión T sustituye a la asunción de la distribución normal de los errores con la distribución t con grados de libertad estadísticamente determinados. Los grados de libertad se correlacionan con el peso de la cola (más grados producen una cola más ligera); colas más pesadas proporcionan una mayor robustez a los valores atípicos.

En otra realización, se selecciona el uso de una distribución de error para proporcionar robustez frente a los valores extremos, por ejemplo, la normal, la familia de distribuciones t, las familias Cauchy, gamma, Weibull, y la S de Johnson S, preferiblemente la familia t.

En los casos en que una característica periódica de las mediciones no se puede determinar, o sólo se pueda estimar con poca confianza, el método y el algoritmo preferiblemente proporciona además una recomendación de que se analicen más muestras. Preferiblemente, también se proporciona una recomendación para la sincronización preferida de las mediciones para ayudar a garantizar que el seguimiento adicional proporcione datos suficientes para caracterizar la fluctuación, tal como los tiempos en que los diferentes modelos que han sido producidos estén en sus puntos más alejados el uno del otro. Alternativamente, se envía una indicación de salida a un operador experto para analizar visualmente los datos y determinar si se puede estimar una sincronización preferida a través de la intervención humana o si se envía al usuario final la recomendación de que se analicen muestras adicionales.

En algunas realizaciones, el método se lleva a cabo en el sitio en una instalación de pruebas en la que las mediciones se obtienen de un sujeto enfermo. En otras realizaciones, el método se lleva a cabo utilizando un dispositivo portátil, generalmente en un punto de atención, que es capaz de medir el biomarcador, por ejemplo, un dispositivo que puede medir los niveles de marcadores inflamatorios de fase aguda a partir de una gota de sangre obtenida de un pinchazo en el dedo. En realizaciones alternativas, el método se realiza en una ubicación central remota de una instalación de pruebas.

Las realizaciones de la invención, preferiblemente reconocen además que las mediciones de biomarcadores obtenidos son susceptibles de constituir un conjunto de muestra escasa, debido a la dificultad en la obtención de tales mediciones menos de aproximadamente el diario del sujeto enfermo. En una realización adicional, se administró el tiempo real de la terapia, se analizan más mediciones del biomarcador después de la administración y/o el resultado de la terapia para permitir un mayor refinamiento de la determinación de la hora preferida para administrar una terapia específica, a un sujeto cuyo sistema inmune está fluctuando de una manera particular y/o para tomar en cuenta cualquier otro factor relevante para la determinación del tiempo preferido para un determinado conjunto de circunstancias.

También se divulga aquí un método implementado por ordenador para el análisis de un biomarcador que fluctúa en un sujeto con una enfermedad, comprendiendo el método:

i) el envío de mediciones del biomarcador a un dispositivo de cómputo, en el que el dispositivo de cómputo puede ser operado para estimar una periodicidad de los ciclos del biomarcador con base en las mediciones; y

ii) recibir la periodicidad estimada de la fluctuación desde el dispositivo de cómputo.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención proporciona un sistema de cómputo para el análisis de un biomarcador que fluctúa en un sujeto con una enfermedad para determinar un tiempo preferido en el futuro para administrar una terapia para tratar dicha enfermedad, comprendiendo el sistema un dispositivo de cómputo operable para: estimar una periodicidad de la fluctuación del biomarcador en el sujeto con base en las mediciones de el biomarcador en muestras del sujeto mediante la obtención de una curva de mejor ajuste para las mediciones de acuerdo con un modelo de la fluctuación del biomarcador, en donde el modelo es una técnica de regresión periódica; y determinar a partir de la periodicidad estimada de la fluctuación un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar la enfermedad en el sujeto mediante la proyección de la curva obtenida de mejor ajuste en el futuro.

Las mediciones pueden ser recibidas a través de una red de comunicaciones a partir de una pluralidad de posiciones de pruebas distribuidas, las mediciones relacionadas con la fluctuación de un biomarcador de cada uno de una pluralidad de sujetos enfermos.

También se divulga aquí un producto de un programa de ordenador que comprende un medio de codificación de un programa de ordenador que hace que un ordenador implemente un método para determinar una sincronización

preferida de administración de una terapia de acuerdo con un método de la invención.

También se divulga aquí un aparato que comprende un medio de procesamiento de datos que está dispuesto para determinar una sincronización preferida de administración de una terapia de acuerdo con un método de la invención.

En lugar de confiar en el análisis de la fluctuación del sistema inmunológico para tratar la enfermedad, el sistema inmunológico puede ser al menos parcialmente "reiniciado" y la población de células T emergentes de interés (efectoras o reguladoras dependiendo de la enfermedad) puede ser dirigido en el momento apropiado. Por lo tanto, también se divulga aquí un procedimiento implementado por ordenador para el análisis de un biomarcador que al menos inicialmente aumenta o disminuye en cantidad en un sujeto después de un tratamiento para una enfermedad, comprendiendo el método la estimación de la sincronización y/o la tasa de al menos el aumento o disminución inicial en la cantidad del biomarcador con base en las mediciones del biomarcador, habiendo sido obtenidas las mediciones al menos después del tratamiento.

El método puede comprender además la determinación de la sincronización y/o tasa estimada de aumento o disminución de un tiempo preferido en el futuro para administrar la terapia. Las mediciones del biomarcador pueden ser recibidas a través de una red de comunicaciones, o recuperadas de un almacenamiento remoto o local.

Antes y después de dicho tratamiento, la cantidad del biomarcador puede ser fluctuante en el sujeto, en cuyo caso el aumento o disminución refleja el inicio del primer ciclo después de dicho tratamiento. Por lo tanto, los niveles de biomarcador típicamente fluctúan en el sujeto con la enfermedad y el tratamiento interrumpe y restablece la fluctuación. Además, esto significa que este aspecto, y los aspectos relacionados, se practican inmediatamente después del tratamiento, tal como dentro de aproximadamente 28 días, o dentro de aproximadamente 21 días, o dentro de aproximadamente 14 días.

Ejemplos de biomarcadores que aumentan después del tratamiento son, pero sin limitarse a, células T efectoras, células T reguladoras (después de las células T efectoras) y marcadores inflamatorios positivos de fase aguda. Los ejemplos de biomarcadores que disminuyen después del tratamiento son, pero no se limitan a, los marcadores antigénicos del cáncer en sujetos con cáncer, y la carga viral en sujetos con una infección viral tal como el VIH.

El "tratamiento" y la "terapia" en este aspecto, y en aspectos relacionados, pueden ser iguales o diferentes. Por lo tanto, este, y los aspectos relacionados, se puede considerar como proveedores de una primera terapia para restablecer al menos parcialmente el sistema inmunológico y una segunda terapia para tratar eficazmente la enfermedad por el direccionamiento de la población de células T de interés.

La estimación de la sincronización y/o la tasa puede comprender la obtención de una curva de mejor ajuste para las mediciones de acuerdo con un modelo de las fluctuaciones del biomarcador para estimar la sincronización y la tasa de al menos el aumento o disminución inicial en la cantidad del biomarcador. La obtención de la curva de mejor ajuste puede comprender además la imposición de una restricción de la caja por lo menos en algunos parámetros del modelo para guiar la optimización a regiones biológicamente realistas. El método puede comprender además la proyección de la curva de mejor ajuste obtenida en el futuro para estimar el tiempo preferido para administrar la terapia.

El método puede comprender además la determinación de una transformación de estabilización de la varianza de las mediciones antes de la estimación de la sincronización y la tasa. La transformación de estabilización de la varianza de las mediciones puede ser el logaritmo de las mediciones.

También se divulga aquí un método implementado por ordenador para el análisis de un biomarcador que al menos inicialmente aumenta o disminuye en cantidad en un sujeto después de un tratamiento para una enfermedad, comprendiendo el método:

i) enviar las mediciones del biomarcador en el sujeto a un dispositivo de cómputo, en donde las mediciones se obtienen al menos después de dicho tratamiento, y en donde el dispositivo de cómputo puede ser operado para estimar la sincronización y/o la tasa de al menos el aumento o disminución inicial de la cantidad del biomarcador con base en las mediciones; y

ii) recibir la sincronización y/o la tasa estimada de al menos el aumento o disminución inicial en la cantidad del biomarcador.

También se divulga aquí un producto de un programa de ordenador que comprende un medio de codificación de un programa de cómputo para provocar que un ordenador implemente un método para el análisis de un biomarcador que al menos inicialmente aumenta o disminuye en cantidad en un sujeto después de un tratamiento para una enfermedad.

También se divulga aquí un sistema de cómputo para el análisis de un biomarcador que al menos inicialmente aumenta o disminuye en cantidad en un sujeto después de un tratamiento para una enfermedad, comprendiendo el sistema un

dispositivo de cómputo que puede ser operado para estimar la sincronización y/o la tasa de al menos el aumento o disminución inicial en la cantidad del biomarcador con base en las mediciones de la biomarcador, siendo las mediciones obtenidas al menos después del tratamiento.

También se divulga aquí un método implementado por ordenador para determinar un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar una enfermedad en un sujeto, comprendiendo el método:

i) con base en las mediciones de un biomarcador que fluctúa en el sujeto, estimar una periodicidad de la fluctuación del biomarcador; y

ii) determinar a partir de la periodicidad estimada de la fluctuación un tiempo preferido en el futuro para administrar la terapia para tratar la enfermedad en el sujeto.

También se divulga aquí un método implementado por ordenador para determinar un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar una enfermedad en un sujeto, comprendiendo el método:

i) con base en las mediciones de un biomarcador que al menos inicialmente aumenta o disminuciones en cantidad en el sujeto después de un tratamiento para la enfermedad, la estimación de una sincronización y/o tasa de al menos el aumento o disminución inicial, en donde las mediciones se obtienen al menos después del tratamiento; y

ii) determinar a partir de la sincronización y/o la tasa estimada de aumento o disminución de un tiempo preferido en el futuro para administrar la terapia.

También se divulga aquí un sistema de cómputo para determinar un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar una enfermedad en un sujeto, comprendiendo el sistema un dispositivo de cómputo capaz de operar para:

i) con base en las mediciones de un biomarcador que fluctúa en el sujeto, estimar una periodicidad de las fluctuaciones del biomarcador; y

ii) determinar a partir de la periodicidad estimada de la fluctuación un tiempo preferido en el futuro para administrar la terapia para tratar la enfermedad en el sujeto.

También se divulga aquí un sistema de cómputo para determinar un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar una enfermedad en un sujeto, comprendiendo el sistema un dispositivo de cómputo que puede ser operado para:

i) con base en las mediciones de un biomarcador que al menos inicialmente aumenta o disminuye en cantidad en el tema después de un tratamiento para la enfermedad, estimar una sincronización y/o una tasa de al menos el aumento o disminución inicial, en donde las mediciones se obtuvieron al menos después del tratamiento; y

ii) determinar a partir de la sincronización y/o la tasa estimada de aumento o disminución, un tiempo preferido en el futuro para administrar la terapia.

También se divulga aquí un producto de un programa de computó que comprende un medio para codificar un programa de ordenador para provocar que un ordenador implemente un método para determinar un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar una enfermedad en un sujeto.

Con respecto a los niveles de fluctuación de un marcador inflamatorio en fase aguda, los presentes inventores han identificado un momento particularmente preferido para administración de la terapia para tratar la enfermedad. Por lo tanto, también se divulga aquí un método para tratar una enfermedad en un sujeto en el que el sistema inmunológico está fluctuando, comprendiendo el método:

i) el control del sujeto para determinar la periodicidad de la fluctuación de un marcador inflamatorio de fase aguda en el sujeto, y

ii) la administración de la terapia, mientras que el nivel del marcador inflamatorio de fase aguda es cada vez mayor, a medio camino entre un mínimo en el ciclo y un máximo en el ciclo, pero antes de que los niveles del marcador inflamatorio de fase aguda alcancen un punto máximo,

en donde la enfermedad se caracteriza por la producción de células T reguladoras.

Un ejemplo de esta sincronización preferida de administración se muestra esquemáticamente en la Figura 19.

Preferiblemente, la enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras se selecciona de, pero no

limitado a, cáncer, una infección y una enfermedad degenerativa.

La infección puede ser causada por cualquier tipo de agente infeccioso tal como, pero no limitado a, un virus, bacterias, protozoos, nematodos, priones, o un hongo. Preferiblemente, el agente infeccioso provoca una infección persistente crónica que se caracteriza porque el sistema inmune del paciente no es capaz de eliminar el agente infeccioso. Los ejemplos de agentes infecciosos que causan la infección crónica persistente son virus tales como el VIH, el virus de la hepatitis B y el virus de la hepatitis C.

También se divulga aquí un método para tratar una enfermedad en un sujeto en donde el sistema inmunológico está fluctuando, comprendiendo el método:

i) controlar al sujeto para determinar la periodicidad de la fluctuación de un marcador inflamatorio de fase aguda en el sujeto, y

ii) la administración de la terapia entre inmediatamente antes e inmediatamente después de que el marcador inflamatorio de fase aguda ha alcanzado su punto más bajo en el ciclo,

en donde la enfermedad se caracteriza por la producción de células T efectoras.

Preferiblemente, la enfermedad caracterizada por la producción de células T efectoras se selecciona de, pero no limitado a, una enfermedad autoinmune o un rechazo de trasplante.

En una realización preferida de los dos aspectos anteriores, se prefiere que un segundo biomarcador que está fuera de fase con la fluctuación del marcador inflamatorio de fase aguda también se controla y se usa para determinar con mayor precisión cuándo administrar la terapia. Los ejemplos de biomarcadores que fluctúan fuera de fase con los marcadores inflamatorios de fase aguda incluyen, pero no se limitan a, TGFβ y la IL-10.

Con respecto a los dos aspectos anteriores, preferiblemente el marcador inflamatorio de fase aguda es un marcador inflamatorio de fase aguda positiva. Los ejemplos de marcadores inflamatorios de fase aguda positiva incluyen, pero no se limitan a, proteína c reactiva (CRP), componente del amiloide A en suero (SAA), componente del amiloide P en suero, proteínas del complemento tales como C2, C3, C4, C5, C9, B, inhibidor de C1 y proteína de enlazamiento a C4, fibrinógeno, factor de von Willebrand, α1-antitripsina, α1-antiquimotripsina, α2-antiplasmina, cofactor II de heparina, inhibidor I del activador del plasminógeno, haptoglobina, hemopexina, ceruloplasmina, manganeso superóxido dismutasa, glicoproteína del ácido α1, hemo oxigenasa, proteína de enlazamiento a manosa, proteína I de leucocitos, lipoproteína (a), proteína de enlazamiento a lipopolisacárido, e interleuquinas tales como IL-I, IL-2, IL-6, IL-10 y los receptores de los mismos. Preferiblemente, el marcador inflamatorio de fase aguda positiva es CRP o SAA, más preferiblemente CRP.

Debido a las complejidades descritas a continuación, los presentes inventores han ideado un régimen de tratamiento que optimiza la posibilidad de tratar eficazmente la enfermedad. Este procedimiento se basa en sobreestimar un poco el momento óptimo de administración de la terapia, y luego volver al ciclo con tratamientos recurrentes durante un cierto número de ciclos. Por consiguiente, también se divulga aquí un método para tratar una enfermedad en un sujeto en el que el sistema inmunológico es fluctuante, comprendiendo el método

i) controlar al sujeto para determinar la periodicidad de la fluctuación de un biomarcador que fluctúa en la enfermedad ,

ii) la predicción del momento óptimo en el ciclo para administrar una terapia para tratar la enfermedad,

iii) la administración de una primera terapia en un momento seleccionado después del tiempo óptimo predicho,

iv) la administración de una segunda terapia en el siguiente ciclo posterior a la etapa iii) en un momento seleccionado antes en el ciclo que la primera terapia, y, opcionalmente,

v) administrar una tercera terapia en el siguiente ciclo después de la etapa iv) en un momento seleccionado antes en el ciclo que la segunda terapia.

En una realización, la primera terapia se administra entre aproximadamente 12 horas y aproximadamente 48 horas después del momento óptimo predicho. En otra realización, la segunda terapia se administra entre aproximadamente 12 horas y aproximadamente 24 horas antes en el ciclo que la primera terapia. En una realización adicional, la tercera terapia se administra entre aproximadamente 12 horas y aproximadamente 24 horas antes en el ciclo que la segunda terapia. El tratamiento se puede continuar con otras terapias administradas en el ciclo subsiguiente entre aproximadamente 12 horas y aproximadamente 24 horas antes que el ciclo anterior. Sin embargo, es probable que dos, y como máximo tres administraciones de la terapia serán suficientes para tratar la enfermedad.

La primera, segunda, tercera, etc., terapias pueden ser iguales o diferentes terapias, pero preferiblemente la misma.

También se divulga aquí el uso de una terapia para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad en un sujeto en el que el sistema inmunológico está fluctuando, en donde se controla al sujeto para determinar la periodicidad de la fluctuación de un marcador inflamatorio de fase aguda en el sujeto, y la terapia se va a administrar, mientras que el nivel del marcador inflamatorio de fase aguda está aumentando, a medio camino entre un mínimo en el ciclo y un máximo en el ciclo, pero antes de que los niveles del marcador inflamatorio de fase aguda alcancen su punto máximo, en donde el enfermedad se caracteriza por la producción de células T reguladoras

También se divulga aquí el uso de una terapia para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad en un sujeto en el cual el sistema inmune está fluctuando, en donde el sujeto es monitoreado para determinar la periodicidad de la fluctuación de un marcador inflamatorio de fase aguda en el sujeto, y la terapia se ha de administrar justo antes y justo después de que el marcador inflamatorio de fase aguda ha alcanzado su punto más bajo en el ciclo, en donde la enfermedad se caracteriza por la producción de células T efectoras.

También se divulga aquí el uso de una terapia para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad en un sujeto en el cual el sistema inmune está fluctuando, en el donde se controla al sujeto para determinar la periodicidad de la fluctuación de un biomarcador que fluctúa en la enfermedad, y la terapia se debe administrar secuencialmente

i) en un tiempo seleccionado después de un tiempo óptimo predicho para administrar la terapia seguido por

ii) en un momento seleccionado antes en el ciclo de i) y, opcionalmente, seguido por

iii) en un momento seleccionado antes en el ciclo de ii).

A menos que se especifique lo contrario, el biomarcador se analiza en cualquier célula o molécula, cuyos niveles están fluctuando en el sujeto enfermo. Los ejemplos de tales biomarcadores incluyen, pero no se limitan a, células T reguladoras, células T efectoras, moléculas asociadas con la enfermedad, y/o marcadores del sistema inmune.

Preferiblemente, el marcador del sistema inmune refleja el número y/o la actividad de las células T reguladoras, y/o el número y/o la actividad de las células T efectoras. En una realización preferida, el marcador de sistema inmune (biomarcador) es una proteína inflamatoria de fase aguda.

En una realización, las células T reguladoras son células T CD4+CD8-.

En otra realización, las células T efectoras son células T CD8+CD4-.

En una realización adicional, la molécula asociada con la enfermedad es un antígeno, o un ácido nucleico que lo codifica, producido por una célula cancerosa o un agente infeccioso.

Se apreciará por parte de la persona ordinariamente capacitada en la materia que enfermedades tales como cáncer, autoinmunidad y SIDA tienen un efecto complejo sobre el paciente. Por otra parte, las variaciones naturales entre individuos vinculados por factores tales como su genotipo, nutrición, acondicionamiento físico, estado previo y actual de la enfermedad, todas influyen sobre cómo un individuo determinado responde a un estado de enfermedad. Así, mientras que en la mayoría de los casos, el ciclo estará en cualquier parte entre 3 y 15 días (a menudo dependiendo del biomarcador que se analiza), en algunas individuos este puede ser un poco más corto o más largo. Además, como el ciclo menstrual, la duración del ciclo puede variar ligeramente dentro de un individuo debido a la variación natural y/o factores ambientales. Por lo tanto, la variación individual, al menos, puede encontrarse con respecto a, por ejemplo, i) la longitud (periodicidad) del ciclo, ii) el número absoluto de células T efectoras o reguladoras durante el ciclo, o iii) los niveles de marcadores inflamatorios de fase aguda durante el ciclo. Tal variación puede ser exagerada en pacientes con enfermedad avanzada, donde el sistema inmunológico del paciente ha sido desafiado durante un período considerable de tiempo.

Como resultado de ello, lo más deseable sería controlar al sujeto durante un período de tiempo suficiente largo para asegurar que la dinámica de la fluctuación del biomarcador dentro de un sujeto en particular es comprendida. Preferiblemente, el sujeto es controlado/medido durante un período de al menos 7 días, más preferiblemente al menos 14 días, más preferiblemente al menos 21 días, más preferiblemente al menos 28 días, más preferiblemente al menos 35 días, más preferiblemente al menos 42 días, e incluso más preferiblemente al menos 49 días.

Además, se prefiere que el sujeto sea controlado tan frecuentemente como sea posible para asegurar que la fluctuación del biomarcador en un sujeto dado sea adecuadamente caracterizada. Naturalmente esto asegurará que la terapia se administre en el momento adecuado y que cualquier pequeña variación en el biomarcador no se malinterprete. Preferiblemente, el sujeto es controlado por lo menos cada 3 días, más preferiblemente al menos cada 2 días, y lo más

preferiblemente por lo menos cada día. El control puede hacerse con mayor frecuencia, por ejemplo cada 12 horas, cuando la fluctuación alcance una etapa en la cual es probable que la sincronización sea apropiada para administrar la terapia. Por lo tanto, se prefiere que se hagan mediciones en serie con una frecuencia definida, sin embargo, la invención permite, no obstante, el uso de mediciones poco frecuentes, siempre y cuando haya suficientes datos representativos para hacer una predicción en cuanto a cuándo administrar la terapia.

Otro factor que complica será si el sujeto ha adquirido recientemente una enfermedad o trauma no relacionado con aquel que se está tratando. Por ejemplo, un sujeto que está siendo tratado por una infección por el VIH también puede contraer el virus de la gripe común. La presencia del virus de la gripe se traducirá en, por ejemplo, un aumento en los marcadores inflamatorios de fase aguda independientemente de la fluctuación de estos marcadores que se presenta debido a la infección por VIH. Por consiguiente, es deseable controlar al sujeto con respecto a cualquier factor que pueda resultar en niveles elevados de, por ejemplo, marcadores inflamatorios de fase aguda para garantizar que el factor que está siendo controlado refleje realmente la fluctuación del biomarcador resultante de la enfermedad que está siendo tratada.

Como se ha señalado anteriormente, en una realización se controlan numerosos biomarcadores al mismo tiempo. Esto es porque, debido a los factores descritos anteriormente, es poco probable que cada biomarcador tenga un perfil de fluctuación perfecto dentro de un período determinado, particularmente durante un número de ciclos, para proporcionar de forma rutinaria una clara indicación del tiempo apropiado para administrar la terapia. Mientras que el análisis de numerosos factores durante un largo período puede ser costoso, y puede ser de al menos alguna incomodidad para el sujeto, enfermedades como el cáncer y el SIDA son potencialmente mortales. Por lo tanto vale la pena comprender lo más posible acerca de la fluctuación del biomarcador en un sujeto determinado antes de que este sea tratado.

Cuando la enfermedad se caracteriza por la producción de células T reguladores se prefiere particularmente que la terapia inhiba la producción de, limita la función de, y/o destruya, células T reguladoras. Más preferiblemente, la terapia se selecciona del grupo que consiste de fármacos contra el cáncer tales como fármacos antiproliferativos, una vacuna, radiación, ARNbc y anticuerpos que inhiben la producción y/o la actividad de células T reguladoras. Preferiblemente, el fármaco antiproliferativo se selecciona de entre el grupo que consiste de, pero no se limita a, taxol, vincristina, vinblastina, temozolomida y vinblastina anhidra.

Ejemplos de anticuerpos preferidos para el tratamiento de una enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras incluyen, pero no se limitan a, anti-CD4+, anti-CTLA-4 (antígeno 4 asociado a linfocitos citotóxicos), anti-GITR (receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides), anti-CD28 y anti-CD25.

Cuando la enfermedad se caracteriza por la producción de células T efectoras se prefiere particularmente que la terapia inhiba la producción de, limita la función de, y/o destruya, células T efectoras. Más preferiblemente, la terapia se selecciona del grupo que consiste de fármacos contra el cáncer, tales como fármacos antiproliferativos, una vacuna, radiación, ARNbc y anticuerpos que inhiben la producción y/o la actividad de células T efectoras. Un ejemplo de un anticuerpo para el tratamiento de una enfermedad caracterizada por la producción de células T efectoras es un anticuerpo anti-CD8+.

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

A lo largo de esta memoria descriptiva, la palabra "comprende", o variaciones tales como " que comprende" o "que incluye", se entenderá que implican la inclusión de un elemento dado, un número entero o etapa, o un grupo de elementos, números enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro elemento, número entero o etapa, o grupo de elementos, números enteros o etapas.

La invención se describe a continuación por medio de los siguientes ejemplos no limitantes y con referencia a las figuras adjuntas.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: ilustra un sistema distribuido para obtener mediciones de biomarcadores cíclicos, el procesamiento centralizado de tales mediciones, y la determinación de un tiempo futuro adecuado para la administración de una terapia.

Figura 2: Un diagrama de flujo de etapas que puede ser realizado mediante un dispositivo de medición en un lugar de pruebas en comunicación con un dispositivo de computo central a través de una amplia red de comunicaciones de área en una primera aplicación.

Figura 3: Un diagrama de flujo de etapas que puede ser realizado por un dispositivo de computo central en comunicación con una pluralidad de dispositivos de medición a través de una amplia red de comunicaciones de área en

una primera aplicación.

Figura 4: Un diagrama de flujo de etapas que puede ser realizado por un dispositivo de medición en un lugar de pruebas en comunicación con un dispositivo de computo central a través de una amplia red de comunicaciones de área en una segunda aplicación.

Figura 5: Un diagrama de flujo de etapas que puede ser realizado por un dispositivo computo central en comunicación con una pluralidad de dispositivos de medición a través de una amplia red de comunicaciones de área en una segunda aplicación.

Figura 6: Ilustra un dispositivo de cómputo de propósito general que puede ser utilizado en un ejemplo de un sistema para implementar la invención.

Figura 7: CRP que fluctúa en un paciente 1 del estudio clínico.

Figura 8: CRP que fluctúa en un paciente 2 del estudio clínico.

Figura 9: CRP que fluctúa en un paciente 3 del estudio clínico.

Figura 10: CRP que fluctúa en un paciente 4 del estudio clínico

Figura 11: CRP que fluctúa en un paciente 5 del estudio clínico.

Figura 12: CRP que fluctúa en un paciente 6 del estudio clínico.

Figura 13: CRP que fluctúa en un paciente 7 del estudio clínico.

Figura 14: CRP que fluctúa en un paciente 8 del estudio clínico.

Figura 15: CRP que fluctúa en un paciente 9 del estudio clínico.

Figura 16: CRP que fluctúa en un paciente 10 del estudio clínico.

Figura 17: CRP que fluctúa en un paciente 11 del estudio clínico.

Figura 18: CRP que fluctúa en un paciente 12 del estudio clínico.

Figura 19: Visión de conjunto de los tiempos de tratamiento predichos para un paciente. Se resalta el tiempo óptimo predicho de administración con base en el estudio piloto.

Figura 20: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de seis mediciones, cada una espaciada con dos días de diferencia.

Figura 21: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de seis mediciones, cada una espaciada por un día de diferencia.

Figura 22: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de diez mediciones, cada una espaciada por un día de diferencia.

Figura 23: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de 10 mediciones, a través de 14 días.

Figura 24: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de quince mediciones, cada una espaciada por un día de diferencia.

Figura 25: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de seis mediciones, cada una espaciada con dos días de diferencia.

Figura 26: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de seis mediciones, cada una espaciada por un día de diferencia.

Figura 27: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta

de diez mediciones, cada una espaciada por un día de diferencia.

Figura 28: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de diez mediciones, a través de 14 días.

Figura 29: Ejemplo de un reporte para un paciente generado aleatoriamente. Este paciente de baja variabilidad consta de quince mediciones, cada una espaciada por un día de diferencia.

Figura 30: Resumen gráfico de las longitudes de los intervalos de las simulaciones. La tasa nominal es de 0,95. CV se refiere a la variabilidad subyacente del paciente; la simetría diferencia entre aquellos diseños que son simétricos (S), aquellos que tienen una preponderancia de medición tardía (L), o con más puntos asignados a ambas (B) colas; N es el número de mediciones, e intervalo se refiere al número de días para el régimen completo. Los incrementos en la longitud de los intervalos con creciente variabilidad subyacente, y que parece no verse afectada por la simetría, el intervalo, y el número de las mediciones. Sin embargo, estos resultados deben ser interpretados a la luz de aquellos que se presentan en la Figura 31.

Figura 31: Resumen gráfico de las longitudes de los intervalos de las simulaciones. La tasa nominal es de 0,95. CV se refiere a la variabilidad subyacente del paciente; la simetría diferencia entre aquellos diseños que son simétricos (S), aquellos que tienen una preponderancia de medición tardía (L), o con más puntos asignados a ambas (B) colas; N es el número de mediciones, e intervalo se refiere al número de días para el régimen completo. Los incrementos de la cobertura con tamaño creciente de la muestra, parecen no verse muy afectados por el intervalo del período de las mediciones, la simetría y la variabilidad subyacente.

Descripción detallada de la invención

Técnicas generales y definiciones

Salvo que se defina específicamente lo contrario, se entiende que todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por una persona ordinariamente capacitada en la materia (por ejemplo, en cultivo celular, genética molecular, terapia del cáncer, inmunología, inmunohistoquímica, química de proteínas y bioquímica).

A menos que se indique lo contrario, la proteína recombinante, el cultivo de células, y técnicas inmunológicas utilizadas en la presente invención son procedimientos estándar, bien conocidos por aquellos ordinariamente capacitados en la materia. Dichas técnicas se describen y explican en la literatura en fuentes tales como, J. Perbal, Una guía práctica para Molecular Cloning, John Wiley and Sons (1984), J. Sambrook y colaboradores, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbour Laboratory Press (1989), T.A. Brown (editor), Essential Molecular Biology: A practical approach, volúmenes 1 y 2, IRL Press (1991), D.M. Glover y B.D. Hames (editores), DNA Cloning: A practical approach, Volúmenes 1-4, IRL Press (1995 y 1996), y F.M. Ausubel y colaboradores (editores), Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates y Wiley Interscience (1988, incluyendo todas las actualizaciones hasta la fecha), Ed Harlow y David Lane (editores) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbour Laboratory, (1988), y J.E. Coligan y colaboradores (editores) Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons (incluyendo todas las actualizaciones hasta la fecha), y se incorporan aquí por referencia.

Tal como se utiliza aquí, los términos "que trata", "tratar" o "tratamiento" incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de una terapia suficiente para reducir o eliminar al menos un síntoma de la enfermedad. En una realización, estos términos se utilizan para indicar que los métodos de la invención aumentan el período de supervivencia del sujeto libre de progresión de la enfermedad cuando se compara con un paciente no tratado, y/o los métodos de la invención aumentan la duración promedio de supervivencia libre de progresión de un grupo de sujetos de la enfermedad cuando se compara con el promedio de un grupo que ha sido tratado aleatoriamente con la terapia.

Como se usa aquí, "fluctuación" o "ciclo" o variaciones de los mismos se refiere a una oscilación repetitiva (persistente) de un biomarcador (número de células, actividad de, marcador de enfermedad, marcador de un sistema inmune etc.), en donde el biomarcador cambia periódicamente de una máximo a un mínimo durante un período dado de tiempo que es típicamente de aproximadamente 3 días hasta aproximadamente 15 días, más típicamente aproximadamente 7 días hasta aproximadamente 14 días, dependiendo del biomarcador. Además, como se usa aquí, el término "la periodicidad de la fluctuación" o variaciones del mismo se refiere al período de tiempo de una onda del ciclo de un punto dado respecto a cuando los niveles de los biomarcadores retornan al punto correspondiente en la siguiente onda.

Tal como se utiliza aquí, el término "determinación de una sincronización preferida de administración de una terapia" o variaciones del mismo se refiere al análisis de la fluctuación del biomarcador (sistema inmune), o la sincronización y/o la tasa de al menos del aumento o disminución inicial en la cantidad del biomarcador después de "reiniciar" el sistema inmune, para predecir cuando la terapia se debe administrar para aumentar las posibilidades de que la enfermedad sea efectivamente tratada.

Tal como se utiliza aquí, el término "predecir el momento óptimo en el ciclo" se refiere a la mejor estimación de cuando la terapia se debe administrar para dirigir la expansión clonal de las células relevantes con base en los datos de control.

El término "marcador del sistema inmune" generalmente se refiere a cualquier molécula o factor que proporciona una indicación del estado y/o actividad del sistema inmune. Estos marcadores pueden estar directamente relacionados con la actividad y/o la producción de células T reguladoras y/o efectoras, y/o pueden proporcionar una indicación más general de la respuesta global del sistema inmune a un antígeno. Los ejemplos de un marcador adecuado del sistema inmune incluyen marcadores inflamatorios de fase aguda tales como la proteína C-reactiva y amiloide A en suero. Otros ejemplos de un marcador del sistema inmune son indicadores de destrucción celular tales como, pero sin limitarse a, colesterol y β-2-microglobulina en suero. El colesterol y la β-2-microglobulina son componentes integrales de las membranas celulares. En particular, la β-2-microglobulina es la molécula accesoria para la Histocompatibilidad Mayor Clase I o el receptor de MHC-1. En consecuencia, con la fluctuación de la respuesta inmune contra la enfermedad junto con la destrucción de la célula objetivo, los niveles en suero en pacientes enfermos de estas dos moléculas son a menudo elevados. Por lo tanto, las oscilaciones en los indicadores de destrucción celular, tales como colesterol y β-2-microglobulina, también pueden resultar útiles en la determinación del comienzo o del final del ciclo de respuesta inmune. Otro ejemplo de un marcador del sistema inmune es la temperatura corporal, sin embargo, en este caso el paciente es controlado directamente sin la necesidad de obtener una muestra.

Como se usa aquí, "fuera de fase" se refiere a dos biomarcadores diferentes con valores máximos en diferentes momentos, por ejemplo opuestos, durante la fluctuación del sistema inmune. Más específicamente, cuando un biomarcador alcanza un valor máximo en el ciclo, el otro biomarcador está en su punto más bajo, y viceversa.

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

Las "células T reguladoras" incluyen, pero no se limitan necesariamente a, una subpoblación de células T CD4+. Tales células también pueden denominarse en la técnica como "células supresoras" o "células T reguladoras". Células T reguladoras pueden actuar ya sea directamente sobre las células T efectoras o pueden ejercer su efecto sobre las células T efectoras a través de otros mecanismos.

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

Tal como se utiliza aquí, el término "inhibe la producción de, limita la función de, y/o destruye" cuando se refiere a la exposición de las "células T efectoras" a la terapia significa que el número, y/o la actividad, de las células T efectoras están subreguladas por la terapia. Lo más preferible, el número, y/o actividad, de las células T efectoras está completamente erradicado por la terapia.

Tal como se utiliza aquí, el término "inhibe la producción de, limita la función de, y/o destruye" cuando se refiere a la exposición de las " células T reguladores" a la terapia significa que el número y/o la actividad, de las células T reguladoras está subregulado por la terapia. Lo más preferible, el número, y/o actividad, de las células T reguladoras está completamente erradicado por la terapia.

Tal como se utiliza aquí, el término "enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras" se refiere a cualquier condición en donde el número o la actividad de las células T reguladoras juega un papel regulador en la prolongación del estado de la enfermedad. Ejemplos de tales enfermedades incluyen, pero no se limitan a, cáncer, enfermedades degenerativas y de infección especialmente infecciones persistentes crónicas.

Como se conoce en la técnica, un cáncer se considera generalmente como un crecimiento celular incontrolado. Los métodos de la presente invención se pueden utilizar para tratar cualquier tipo de cáncer, incluyendo, pero sin limitarse a, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma, y leucemia. Los ejemplos más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer de células escamosas, cáncer pulmonar de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de ovario, cáncer cervical, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer colorrectal, cáncer de cuello uterino, carcinoma endometrial, carcinoma de glándula salival, mesotelioma, cáncer de riñón, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer de piel, melanoma, cáncer cerebral, neuroblastoma, mieloma, varios tipos de cáncer de cabeza y cuello, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, sarcoma de Ewing y neuroepitelioma periférico.

Tal como se utiliza aquí, el término "infección crónica persistente" se refiere a la presencia de un agente infeccioso en el sujeto que no es fácilmente controlada por el sistema inmune del sujeto o por terapias disponibles. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, infecciones con *Mycobacterium tuberculosis* (que causa la tuberculosis), el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis C o retrovirus, tales como el VIH. Para ser clasificada como una "infección crónica

persistente" se prefiere que el sujeto haya tenido al menos la infección durante 3 meses, más preferiblemente al menos 6 meses.

Tal como se usa en el presente documento, una "enfermedad degenerativa" es una condición que resulta en la pérdida de células. Preferiblemente, la enfermedad degenerativa es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por la pérdida de células nerviosas. Los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas relevantes para la presente invención incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alexander, enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrigs), Ataxia Telangiectasia, enfermedad de Canavan, síndrome de Cockayne, Degeneración Corticobasal, enfermedad de Huntingdon, enfermedad de Kennedy, enfermedad de Krabbe, Demencia por cuerpos de Lewy, enfermedad de Machado-Joseph, enfermedad de Parkinson, Enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, enfermedad de Pick, esclerosis lateral primaria, enfermedad de Refsum, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Schilder, enfermedad Steele-Richardson-Olszewski, Tabes dorsal y enfermedades relacionadas con priones tales como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Alper, Kuru, síndrome de Gersymann-Straussler-Scheinker, insomnio familiar fatal, tembladera, encefalopatía transmisible por leche, enfermedad debilitante crónica, y encefalopatía espongiforme bovina. En otra realización, la enfermedad degenerativa es una "enfermedad relacionada con amiloides", ejemplos de las cuales incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, diabetes Tipo II y la angiopatía amiloide cerebral.

Tal como se utiliza aquí, el término "enfermedad caracterizada por la producción de células T efectoras" se refiere a cualquier condición en donde el número o la actividad de las células T efectoras juega un papel en la prolongación del estado de enfermedad. Estas enfermedades son o bien i) típicamente caracterizadas por una respuesta inmune contra antígenos propios conocidos generalmente en la técnica como enfermedades autoinmunes, o ii) implican una respuesta inmune de los sujetos durante el trasplante de un órgano/tejido/célula de un donante adecuado. Ejemplos de tales enfermedades incluyen, pero no se limitan a, enfermedades autoinmunes y rechazos de trasplantes incluyendo tanto enfermedad del huésped contra injerto y enfermedad de injerto contra huésped.

Como se utiliza aquí, el término "enfermedad autoinmune" se refiere a cualquier enfermedad en la cual el cuerpo produce una respuesta inmunogénica (es decir, el sistema inmune) a algunos constituyentes de su propio tejido. En otras palabras, el sistema inmune pierde su capacidad para reconocer algún tejido o sistema dentro del cuerpo como "propios" y se dirige y lo ataca como si fuera extraño. Las enfermedades autoinmunes se pueden clasificar en aquellas en los que predominantemente un órgano se ve afectada (por ejemplo, anemia hemolítica y la tiroiditis antiinmune), y aquellas en las cuales el proceso de enfermedad autoinmune se difunde a través de muchos tejidos (por ejemplo, lupus eritematoso sistémico). Ejemplos de enfermedades autoinmunes incluyen, pero no se limitan a, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso, miastenia grave, escleroderma, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad de Hashimoto, enfermedad de Graves, síndrome de Sjogren, insuficiencia poliendocrina, vitíligo, neuropatía periférica, síndrome poliglandular autoinmune tipo I, glomerulonefritis aguda, enfermedad de Addison, hipoparatiroidismo idiopático iniciado en el adulto (AOIH), alopecia total, esclerosis lateral amiotrófica, espondilitis anquilosante, anemia aplásica autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, enfermedad de Behcet, enfermedad celíaca, hepatitis crónica activa, síndrome de CREST, dermatomiositis, cardiomiopatía dilatada, síndrome de eosinofilia-mialgia, epidermólisis bullosa adquirida (EBA), arteritis de células gigantes, síndrome de Goodpasture, síndrome de Guillain-Barr, hemocromatosis, púrpura de Henoch Schonlein, nefropatía IgA idiopática, diabetes mellitus insulinodependiente (DMID) , artritis reumatoide juvenil, síndrome de Lambert-Eaton, dermatosis IgA lineal, miocarditis, narcolepsia, vasculitis necrotizante, síndrome de lupus neonatal (NLE), síndrome nefrótico, penfigoide, pénfigo, polimiositis, colangitis esclerosante primaria, psoriasis, glomerulonefritis rápidamente progresiva (GNRP), síndrome de Reiter, síndrome del hombre rígido, enfermedad inflamatoria del intestino, osteoartritis y tiroiditis.

El término "trasplante" y variaciones del mismo se refiere a la inserción de un injerto en un huésped, tanto si el trasplante es alogénico (donde el donante y el receptor son de diferentes orígenes genéticos pero de la misma especie), o xenogénico (en donde el donante y el receptor son de diferente especie). Así, en un escenario típico, el huésped es humano y el injerto es un isoinjerto, derivado de un humano del mismo o de diferente origen genético. En otro escenario, el injerto se deriva de una especie diferente de aquella en la cual se trasplanta, tal como un corazón de babuino trasplantado en un huésped receptor humano, y que incluye animales de especies filogenéticamente muy separadas, por ejemplo, una válvula de corazón de cerdo, o células de islotes beta de animales o células neuronales trasplantadas en un huésped humano. Las células, tejidos y/u órganos pueden ser trasplantados, los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, células aisladas tales como células de islotes; tejidos, tales como la membrana amniótica de un recién nacido, médula ósea, células precursoras hematopoyéticas, y tejido ocular, tal como tejido corneal; y órganos tales como piel, corazón, hígado, bazo, páncreas, lóbulo tiroideo, pulmón, riñón, órganos tubulares (por ejemplo, intestino, vasos sanguíneos, o esófago), etc. Los órganos tubulares pueden usarse para reemplazar porciones dañadas del esófago, vasos sanguíneos, o conducto biliar. Los injertos de piel pueden usarse no sólo para quemaduras, sino también como vendaje para intestino dañado o para cerrar ciertos defectos tales como hernia diafragmática. El injerto se deriva de cualquier fuente de mamífero, incluyendo el ser humano, ya sea de cadáveres o donantes vivos. Preferiblemente, el injerto es médula ósea o un órgano tal como el corazón.

Tal como se utiliza aquí, el término "enfermedad de injerto contra huésped" se refiere a un ataque inmune sobre el receptor por las células de un donante. Mientras que las células trasplantadas pueden ser de cualquier tipo de célula,

típicamente los únicos tejidos trasplantados que albergan células inmunes suficientes para causar la enfermedad injerto contra huésped son la sangre y la médula ósea.

Como se usa en este documento, el término "enfermedad huésped contra injerto" se refiere a las reacciones mediadas por linfocitos de un huésped contra células alogénicas o xenogénicas adquiridos como un injerto o bien, que conducen a daño y/o destrucción de las células injertadas. Esta es la base común del rechazo del injerto.

Como se usa en este documento, "rechazo de trasplante" o variaciones del mismo se refiere al sistema inmune del huésped que monta una respuesta inmune al injerto, resultando finalmente en que el injerto es rechazado por el huésped. En general, existen dos tipos de "rechazo de trasplante", a saber, enfermedad de injerto contra huésped y enfermedad de huésped contra injerto.

Tal como se utiliza aquí, el término "una molécula asociada con la enfermedad" se refiere a cualquier molécula que está vinculada al estado de la enfermedad. En una realización preferida, el marcador es una proteína, o un ácido nucleico que codifica la misma tal como un gen o un ARNm. Tales marcadores de proteínas y de ácidos nucleicos son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los niveles del péptido amiloide β pueden ser marcadores de la enfermedad de Alzheimer, y las proteínas priónicas en su conformación β pueden ser un marcador de enfermedades relacionadas con el prión. Los ejemplos de marcadores antigénicos tumorales adecuados incluyen, pero no se limitan a, para AFP (marcador de carcinoma hepatocelular y tumores de células germinales), CA 15-3 (marcador de numerosos tipos de cáncer incluyendo cáncer de mama), CA 19-9 (marcador de numerosos cánceres, incluyendo cáncer de páncreas y los tumores del tracto biliar), CA 125 (marcador para varios tipos de cáncer como el cáncer de ovario), calcitonina (marcador de diversos tumores, incluyendo carcinoma medular de tiroides), catecolaminas y metabolitos (feocromocitoma), CEA (marcador para varios tipos de cáncer, incluyendo cáncer colorrectal y otros cánceres gastrointestinales), hCG/beta hCG (marcador para varios tipos de cáncer, incluyendo tumores de células germinales y coriocarcinomas), 5HIAA en orina (síndrome carcinoide), PSA (cáncer de próstata), serotonina (síndrome carcinoide) y tiroglobulina (carcinoma de la tiroides). Los marcadores adecuados para, si no todas, las enfermedades infecciosas son también bien conocidos, por ejemplo las proteínas gag o env del VIH.

Tal como se utiliza aquí, el término "seguimiento" o variaciones del mismo se refiere al análisis de los niveles de un biomarcador en un período de tiempo suficiente para caracterizar adecuadamente la periodicidad de la fluctuación del biomarcador, o la sincronización y/o la tasa de al menos el aumento o disminución inicial de la cantidad del biomarcador después del “restablecimiento” del sistema inmune. Los ejemplos de períodos de tiempo adecuados y frecuencia de los análisis se describen aquí. En general, el seguimiento/análisis se realizará sobre muestras obtenidas del sujeto. Sin embargo, en algunos casos seguimiento/análisis se realiza directamente sobre el sujeto, tal como la determinación de la temperatura corporal.

La "muestra" se refiere a un material que se sospecha que contiene al biomarcador tal como células T reguladoras células efectoras, marcadores del sistema inmune y/o una molécula asociada con la enfermedad. La muestra se puede usar tal como la obtenida directamente de la fuente o después de al menos una etapa de purificación (parcial). La muestra se puede preparar en cualquier medio conveniente que no interfiera con el método de la invención. Típicamente, la muestra es una solución acuosa o un fluido biológico como se describe en más detalle a continuación. La muestra se puede derivar de cualquier fuente, tal como un fluido fisiológico, incluyendo sangre, suero, plasma, saliva, esputo, fluido de la lente ocular, hisopo bucal, sudor, heces, orina, leche, líquido ascítico, líquido mucoso, sinovial, fluido peritoneal, exudados transdérmicos, exudados faríngeos, lavado broncoalveolar, aspiraciones traqueales, líquido cefalorraquídeo, semen, moco cervical, secreciones vaginales o uretrales, líquido amniótico, y similares. Preferiblemente, la muestra es sangre o una fracción de la misma. El tratamiento previo puede implicar, por ejemplo, preparación de plasma a partir de sangre, diluyendo fluidos viscosos, y similares. Los métodos de tratamiento pueden implicar filtración, destilación, separación, concentración, inactivación de componentes interferentes, y la adición de reactivos. La selección y el tratamiento previo de muestras biológicas antes de la prueba se conoce bien en la técnica y no necesitan ser descritos adicionalmente. En algunas formas de realización, debido a la tecnología actual una gota de sangre de un pinchazo en el dedo será una muestra suficiente, por ejemplo para probar los niveles de marcadores inflamatorios de fase aguda.

El término "sujeto" como se usa aquí, se entiende cualquier animal, en particular mamíferos, como los humanos, caballos, vacas, gatos y perros, y puede, según sea el caso, utilizarse en forma intercambiable con el término "paciente". Preferiblemente, el sujeto es un ser humano.

El término "anticuerpo" como se usa en esta invención incluye moléculas intactas así como moléculas que comprenden o que consisten de fragmentos de las mismas, tales como Fab, F(ab')2 y Fv, que son capaces de enlazarse a un determinante epitópico. Estos fragmentos de anticuerpo conservan cierta capacidad para unirse selectivamente a la molécula objetivo tales como CD8 o CD4, cuyos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, lo siguiente:

(1) Fab, el fragmento que contiene un fragmento monovalente de unión al antígeno de un molécula de anticuerpo que puede ser producida por digestión del anticuerpo completo con la enzima papaína para producir una cadena ligera

intacta y una porción de una cadena pesada;

(2) Fab', el fragmento de una molécula de anticuerpo puede obtenerse tratando el anticuerpo completo con pepsina, seguido por reducción, para producir una cadena ligera intacta y una porción de la cadena pesada; dos fragmentos Fab' se obtienen por molécula de anticuerpo;

(3) (Fab')2, el fragmento del anticuerpo que puede obtenerse mediante el tratamiento de anticuerpo completo con la enzima pepsina sin reducción posterior; F(ab)2 es un dímero de dos fragmentos Fab' mantenidos juntos por dos enlaces disulfuro;

(4) Fv, definido como un fragmento modificado por ingeniería genética que contiene la región variable de la cadena ligera y la región variable de la cadena pesada expresada como dos cadenas;

(5) Anticuerpo de cadena sencilla ("SCA"), definido como una molécula modificada por ingeniería genética que contiene la región variable de la cadena ligera, la región variable de la cadena pesada, unidas por un enlazador polipeptídico adecuado como una molécula de cadena única fusionada genéticamente; tales anticuerpos de cadena sencilla pueden estar en la forma de multímeros, tales como diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos, etc., que pueden o no ser poliespecíficos (véase, por ejemplo, los documentos WO 94/07921 y WO 98/44001) y

(6) Anticuerpo de dominio único, típicamente un dominio pesado variable carece de una cadena ligera.

Modelamiento de biomarcadores por ordenador

La Figura 1 ilustra un sistema 100 distribuido para la obtener mediciones de biomarcadores fluctuantes, procesando en forma centralizada dichas mediciones, y determinando un tiempo futuro adecuado para administración de una terapia. Un dispositivo 110 de medición mide los niveles de biomarcadores de una pluralidad de sujetos enfermos en varias ubicaciones. Las mediciones obtenidas se comunican a través de una amplia red de comunicaciones, tales como la Internet 120 hacia un dispositivo 130 central de cómputo. Para cada individuo, los dispositivos 130 de cómputo estima a partir de las mediciones un tiempo futuro en el cual se debe administrar la terapia, para, por ejemplo, aumentar las probabilidades de supervivencia libre de progresión. El dispositivo 130 central de cómputo puede ser un servidor y el dispositivo 110 de medición puede ser un ordenador de escritorio, un dispositivo inalámbrico tipo ordenador portátil como un teléfono inteligente, o un dispositivo de cómputo dedicado.

En una primera aplicación, el dispositivo 110 de medición puede ser operado para obtener mediciones de un biomarcador que fluctúa en el tiempo en un sujeto; véase la etapa 210 en la figura 2. Las mediciones son luego enviadas al dispositivo 130 central de cómputo a través de la Internet 120; véase la etapa 220. De forma alternativa o adicionalmente, las mediciones se pueden enviar a un almacén remoto de datos para su recuperación por parte del dispositivo central de cómputo.

En el dispositivo 130 central de cómputo, las mediciones se reciben o se recuperan de la memoria de datos, y se analizan para estimar la periodicidad de la fluctuación del biomarcador; véanse las etapas 310 y 320 en la figura 3. A partir de la periodicidad estimada de la fluctuación del biomarcador, el dispositivo 130 central de cómputo determina luego un tiempo determinado para administrar la terapia y envía la periodicidad estimada y/o el tiempo preferido al dispositivo 110 de medición a través de la Internet 120; véanse las etapas 330 y 340 en la figura 3.

En el dispositivo 110 de medición, se determina la periodicidad estimada y/o el tiempo preferido de administración; véase la etapa 230 en la figura 2. De forma alternativa o adicionalmente, la periodicidad estimada, o el tiempo preferido, o ambos, se envían a otro dispositivo de cómputo que es independiente del dispositivo 110 de medición.

En lugar de confiar en el análisis de la fluctuación del sistema inmune para tratar la enfermedad, el sistema inmune puede ser al menos parcialmente "restablecido" y la población de células T emergentes de interés (efectoras o reguladoras dependiendo de la enfermedad) pueden ser dirigidas en el momento apropiado en una segunda aplicación. Con referencia ahora a la Figura 4 y la Figura 5, el dispositivo 110 de medición puede ser operado para obtener mediciones de un biomarcador en un sujeto, donde el biomarcador aumenta o disminuye al menos inicialmente en cantidad después de ser tratado para la enfermedad; véase la etapa 410 en la figura 4. En este caso, las mediciones fueron por lo menos obtenidas después de dicho tratamiento. Las mediciones se envían al dispositivo 130 central de cómputo a través de la Internet 120; véase la etapa 420. De forma alternativa o adicionalmente, las mediciones pueden ser enviadas a un almacén remoto de datos para su recuperación por el dispositivo central de computó.

En el dispositivo 130 central de cómputo, las mediciones se reciben o se recuperan del almacén de datos; véase la etapa 510 en la Figura 5. El dispositivo 130 central de cómputo analiza luego las mediciones para estimar la sincronización y/o la tasa de al menos el aumento o disminución inicial en la cantidad del biomarcador; véase la etapa 520 en la Figura 5. A partir de la sincronización y la tasa estimados, el dispositivo 130 central de cómputo determina luego un tiempo preferido en el futuro para administrar la terapia; véase la etapa 530. El dispositivo 130 central de

cómputo envía luego la sincronización y/o la tasa estimada al dispositivo 110 de medición a través de la Internet 120; véase la etapa 540. De forma alternativa o adicionalmente, el tiempo preferido se envía al dispositivo de medición.

En el dispositivo 110 de medición, se determina la sincronización y/o la tasa estimados y/o el tiempo preferido de administración; Véase la etapa 430 en la figura 4. De forma alternativa o adicionalmente, la sincronización y/o tasa estimados y el tiempo preferido se pueden enviar a otro dispositivo de cómputo que es independiente del dispositivo 110 de medición.

Algunas partes de esta descripción detallada se presentan en términos de algoritmos y de representaciones simbólicas de operaciones en bits de datos dentro de una memoria de ordenador. Estas descripciones algorítmicas y representaciones son los medios utilizados por los expertos en el arte de procesamiento de datos para transmitir con mayor eficacia la sustancia de su trabajo a otros expertos en la técnica. Un algoritmo es aquí, y, en general, concebido para ser una secuencia autoconsistente de etapas que conducen a un resultado deseado. Las etapas son aquellas que requieren manipulaciones físicas de cantidades físicas. Por lo general, aunque no necesariamente, estas cantidades adoptan la forma de señales eléctricas o magnéticas capaces de ser almacenadas, transferidas, combinadas, comparadas y manipuladas de otro modo. Se ha demostrado ser conveniente a veces, principalmente por razones de uso común, referirse a estas señales como bits, valores, elementos, símbolos, caracteres, términos, números o similares.

Como tal, se entenderá que tales actos y operaciones, que son a veces referidos como siendo ejecutados por ordenador, incluyen la manipulación por la unidad de procesamiento del ordenador de señales eléctricas que representan datos en una forma estructurada. Esta manipulación transforma los datos o los mantiene en ubicaciones en el sistema de memoria del ordenador, que reconfigura o bien altera el funcionamiento del ordenador en una forma bien entendida por los expertos en la técnica. Las estructuras de datos donde se mantienen los datos son ubicaciones físicas de la memoria que tienen propiedades particulares definidas por el formato de los datos. Sin embargo, aunque la invención se describe en el contexto anterior, no se pretende que sea limitante como los expertos en la técnica apreciarán que varios de los actos y operaciones descritas también pueden implementarse en hardware.

Hay que tener en cuenta, sin embargo, que todos estos términos y similares están asociados con cantidades físicas apropiadas y son meramente etiquetas convenientes aplicadas a estas cantidades. A menos que se especifique lo contrario como es evidente a partir de la descripción, se aprecia que a lo largo de la descripción, las discusiones que utilizan términos como "procesamiento" o "computación" o "cálculo" o "determinación" o "despliegue" u "obtención" o "proyección" o "análisis" o "imposición" o similares, se refieren a la acción y a los procesos de un sistema de cómputo o dispositivo electrónico similar de computo, que manipula y transforma los datos representados como cantidades físicas (electrónicas) dentro de los registros y memorias del sistema de cómputo en otro datos representados de manera similar como cantidades físicas dentro de las memorias del sistema de cómputo o registros u otros dispositivos, tales como almacenamiento, transmisión o despliegue de información.

Como se divulga aquí también se refiere a un aparato para realizar las operaciones en el presente documento. Este aparato puede ser construido especialmente para los fines requeridos, o puede comprender un ordenador de propósito general activado o reconfigurado selectivamente por un programa de ordenador almacenado en el ordenador. Tal programa de ordenador puede ser almacenado en un medio de almacenamiento legible para el ordenador, tal como, pero sin limitarse a, cualquier disco incluyendo discos flexibles, discos ópticos, CD-ROM, y discos magnético-ópticos, memorias de sólo lectura (ROM), memorias de acceso aleatorio (RAM), EPROM, EEPROM, tarjetas magnéticas u ópticas, o cualquier tipo de medios adecuados para almacenar instrucciones electrónicas, y cada uno acoplado a un bus de sistema de cómputo.

Los algoritmos y las exposiciones presentadas aquí no están intrínsecamente relacionados con cualquier ordenador u otro aparato en particular. Varios sistemas de propósito general pueden ser utilizados con programas de acuerdo con las enseñanzas en el presente documento, o puede resultar conveniente construir un aparato más especializado para llevar a cabo las etapas del método requerido. La estructura requerida para una variedad de estos sistemas será evidente a partir de la descripción. Además, la presente invención no se describe con referencia a ningún lenguaje de programación particular. Se apreciará que una variedad de lenguajes de programación puede ser utilizada para implementar las enseñanzas de la invención como se describe en el presente documento.

Un medio legible por una máquina incluye cualquier mecanismo para almacenar o transmitir información en una forma legible por una máquina (por ejemplo, un ordenador). Por ejemplo, un medio legible por una máquina incluye una memoria de sólo lectura ("ROM"); una memoria de acceso aleatorio ("RAM"); medios de almacenamiento en disco magnético; medios de almacenamiento óptico; dispositivos de memoria flash; eléctricas, ópticos, acústicas u otras formas de señales propagadas (por ejemplo, ondas portadoras, señales de infrarrojos, señales digitales, etc.); etcétera.

La invención se ilustra como implementada en un entorno informático adecuado (Figura 6). Aunque no se requiere, la invención se describirá en el contexto general de instrucciones ejecutables por ordenador, tales como módulos de programa, ejecutado por un ordenador personal. Generalmente, los módulos de programa incluyen rutinas, programas,

objetos, componentes, estructuras de datos, etc., que realizan tareas particulares o implementan tipos particulares de datos abstractos. Por otra parte, los expertos en la técnica apreciarán que la invención puede ponerse en práctica con otras configuraciones de sistemas informáticos, incluyendo dispositivos de portátiles, sistemas multiprocesador, electrónica de consumo basado en microprocesador o programable, PC de red, miniordenadores, ordenadores centrales, y similares. La invención puede ponerse en práctica en entornos informáticos distribuidos donde las tareas son realizadas por dispositivos de procesamiento remoto que están enlazados a través de una red de comunicaciones. En un entorno informático distribuido, los módulos de programa pueden estar situados tanto en dispositivos de almacenamiento de memoria locales como remotos.

En la Figura 6, un dispositivo informático de propósito general se muestra en la forma de un ordenador 20personal convencional, incluyendo una unidad 21 de procesamiento, una memoria 22 del sistema, y un bus 23 del sistema que acopla varios componentes del sistema incluyendo la memoria del sistema a la unidad 21 de procesamiento. El bus 23 del sistema puede ser cualquiera de varios tipos de estructuras de bus incluyendo un bus de memoria o controlador de memoria, un bus periférico, y un bus local usando cualquiera de una variedad de arquitecturas de bus. La memoria del sistema incluye memoria de sólo lectura (ROM) 24 y la memoria de acceso aleatorio (RAM) 25. Un sistema básico de entrada/salida (BIOS) 26, que contiene las rutinas básicas que ayudan a transferir información entre elementos dentro del ordenador 20 personal, tal como durante el arranque, se almacena en la ROM 24. El ordenador 20 personal incluye además una unidad de disco 27 duro para la lectura y escritura en un disco 60 duro, una unidad de disco magnético 28 para leer o escribir en un disco 29 magnético extraíble, y una unidad de disco 30 óptico para leer o escribir en un disco 31 óptico extraíble, tal como un CD ROM u otro medio óptico.

La unidad de disco 27 duro, unidad de disco magnético 28, y la unidad de disco 30 óptico están conectados al bus 23 del sistema mediante una interfaz 32 de disco duro, una interfaz 33 de disco magnético, y una interfaz 34 de disco óptico, respectivamente. Las unidades y sus medios asociados legibles por ordenador proporcionan almacenamiento no volátil de instrucciones legibles por el ordenador, estructuras de datos, módulos de programa y otros datos para el ordenador 20 personal. Aunque el ejemplo de un entorno mostrado emplea un disco 60 duro, un disco 29 magnético, y un disco 31 óptico extraíble, se apreciará por los expertos en la técnica que otros tipos de medios legibles por ordenador que pueden almacenar datos que son accesible para un ordenador, tales como casetes magnéticos, tarjetas de memoria flash, discos de vídeo digitales, cartuchos Bernoulli, memorias de acceso aleatorio, memorias de sólo lectura, redes de área de almacenamiento, y similares también pueden usarse en el entorno operativo del ejemplo.

Un número de módulos de programa puede ser almacenado en el disco 60 duro, disco 29 magnético, disco 31 óptico, ROM 24 o RAM 25, incluyendo un sistema 35 operativo, uno o más programas 36 de aplicación, otros módulos 37 de programa y datos 38 de programa. Un usuario puede introducir comandos e información en el ordenador 20 personal a través de dispositivos de entrada tales como un teclado 40 y un dispositivo 42 señalador. Otros dispositivos de entrada (no mostrados) pueden incluir un micrófono, un comando, una almohadilla para juegos, una placa satelital, un escáner o similares. Estos y otros dispositivos de entrada están a menudo conectados a la unidad de procesamiento 21 a través de una interfaz 46 de puerto serial que está acoplada al bus del sistema, pero pueden estar conectados por otras interfaces, tales como un puerto paralelo, puerto de juegos o un bus serial universal (USB) o una tarjeta de interfaz de red. Un monitor 47 u otro tipo de dispositivo de visualización también está conectado al bus del sistema 23 a través de una interfaz, tal como un adaptador 48 de vídeo. Además del monitor, los ordenadores personales incluyen típicamente otros dispositivos de salida periféricos, no mostrados, tales como altavoces e impresoras.

El ordenador 20 personal puede operar en un entorno de red usando conexiones lógicas a uno o más ordenadores remotos, como por ejemplo un ordenador 49 remoto. El ordenador 49 remoto puede ser otro ordenador personal, un servidor, un enrutador, un PC de red, un dispositivo par u otro nodo de red común, y típicamente incluye muchos o todos los elementos descritos anteriormente con respecto al ordenador 20 personal, aunque sólo un dispositivo 50 de almacenamiento de memoria ha sido ilustrado. Las conexiones lógicas representadas incluyen una red de área local (LAN) 51 y una red de área amplia (WAN) 52. Tales entornos de red son comunes en oficinas, redes informáticas de toda la empresa, intranets y, entre otros, la Internet.

Cuando se utiliza en un entorno de red LAN, el ordenador 20 personal está conectado a la red 51 local a través de una interfaz de red o adaptador 53. Cuando se utiliza en un entorno de red WAN, el ordenador 20 personal incluye, típicamente, un módem 54 u otros medios para establecer comunicaciones sobre la WAN 52. El módem 54, que puede ser interno o externo, está conectado al bus 23 del sistema a través de la interfaz 46 de puerto serial. En un entorno de red, los módulos de programa representados con respecto al ordenador 20 personal, o porciones del los mismos, pueden ser almacenados en el dispositivo de almacenamiento de memoria remoto. Se apreciará que las conexiones de red mostradas son ejemplos y se pueden usar otros medios de establecimiento de comunicaciones de enlace entre los ordenadores.

Terapia

Se divulga aquí el uso de tres diferentes tipos de terapias. Estas son:

1) terapias que son específicos para células T efectoras (tales como anticuerpos específicos para CD8+) que se pueden utilizar para tratar una enfermedad caracterizada por la producción de células T efectoras,

2) terapias que son específicas para células T reguladoras (tales como anticuerpos específicos CD4 +) que se pueden utilizar para tratar una enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras, y

3) terapias no selectivas que influyen en las células T efectoras y células T reguladores, sin embargo, la sincronización de la administración de la terapia dicta el tipo de célula objetivo.

El análisis actual indica que existe aproximadamente un período de tiempo 12 horas para administrar la terapia en cada ciclo, y/o inmediatamente después del "restablecimiento" del sistema inmune. En una realización preferida, la terapia es oral, tiene alta biodisponibilidad, tiene baja toxicidad para el paciente y/o tiene una vida media de 6 a 15 horas. Los ejemplos de tales terapias incluyen agentes alcalinizantes, alcaloides de la vinca y taxanos.

Terapias para el tratamiento de una enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras

La terapia puede ser cualquier agente, factor o tratamiento que dé como resultado la destrucción de forma selectiva o no selectiva, limite la función de, o la inhibición de la producción, de las células T reguladoras. Por ejemplo, un anticuerpo específico para CD4+ se podría utilizar para ser dirigido específicamente a células T CD4+. Sin embargo, en algunos casos se podría utilizar una terapia no selectiva, tal como un fármaco antiproliferativo, un fármaco anti-metabólico o radiación, cada una de las cuales está dirigida a células en división. En particular, como con otros tipos de células, las células T reguladoras son particularmente vulnerables a la destrucción por fármacos antimitóticos (antiproliferativos) o venenos del huso (por ejemplo, vinblastina o paclitaxel) cuando se dividen y específicamente en la mitosis.

Preferiblemente, se administra la terapia, o la estimación de la hora preferida para administración, de tal que la actividad de las células T efectoras no se reduzca significativamente. Más específicamente, la sincronización es tal que la terapia ejerce un efecto proporcionalmente mayor contra las células T reguladoras que contra las células T efectoras. Es claramente preferible que el agente se administre en un momento cuando la relación del efecto contra las células T reguladoras con respecto al efecto contra las células T efectoras es mayor. En una realización preferida, la terapia para el tratamiento de una enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras se administra justo antes o justo después de que las células T reguladoras se expandan clonalmente.

El término "fármaco antiproliferativo" y "drogas antimetabólico" es un término bien conocido en la técnica y se refiere a cualquier compuesto que destruye las células en división o que las inhibe de experimentar una mayor proliferación. Los fármacos antiproliferativos incluyen, pero no se limitan a, mecloretamina, temozolomida, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán, clorambucilo, hexametil-melamina, tiotepa, busulfán, carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, dacarbazina, metotrexato, fluorouracilo, floxuridina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina, vinblastina, vinblastina anhidra, vincristina, etopósido, tenipósido, dactinomicina, daunorrubicina, doxorrubicina, bleomicina, plicamicina, mitomicina, L-asparaginasa, cisplatino, mitoxantrona, hidroxiurea, procarbazina, mitotano, aminoglutetimida, prednisona, caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroprogesterona , acetato de megestrol, dietilestilbestrol, etinilestradiol, tamoxifeno, propionato de testosterona, isótopos radiactivos, cadena A de ricina, taxol, toxina de la difteria, colchicina y exotoxina A de *Pseudomonas*.

Estudios recientes han sugerido que las células T CD4+ CD25+ juegan un papel importante en la regulación de células inmunes dirigidas contra antígenos propios (Salomon y colaboradores, 2000; Suri-Payer y Cantor, 2001). Por otra parte, Se ha demostrado el direccionamiento de las células T CD25+ CD4+ para mejorar la capacidad de un animal para controlar el crecimiento tumoral (Onizuka y colaboradores, 1999; Shimizu y colaboradores, 1999; Sutmuller y colaboradores, 2001). En consecuencia, las células T CD4+ CD25+ pueden actuar como células T reguladoras como se usa en el presente documento. La actividad de las células T CD4+ CD25 + puede ser subregulada por anti-GITR, anti-CD28 y/o anti-CTLA-4 (Read y colaboradores, 2000; Takahashi y colaboradores, 2000; Shimizu y colaboradores, 2002). Por lo tanto, estos anticuerpos pueden ser útiles como agentes para uso en los métodos de la presente invención.

La terapia se administra generalmente en las formas de dosificación que se encuentran fácilmente disponibles para el médico experto, y se administran generalmente en sus cantidades normalmente prescritas (como por ejemplo, las cantidades descritas en el Physician's Desk Reference, 55a Edición, 2001, o las cantidades descritas en la literatura del fabricante para el uso de la terapia). En una realización, la terapia se administra como una inyección de un solo bolo. En otra realización, la terapia se administra por infusión. El período de infusión puede ser, por ejemplo, de al menos 3 horas, al menos 12 horas o al menos 24 horas.

También se ha determinado que el tratamiento para una enfermedad caracterizada por la producción de células T reguladoras puede ser mejoradas (o las posibilidades de éxito del tratamiento pueden ser mejoradas) cuando se administra la vacuna en el momento apropiado. En estos casos, la vacuna refuerza la respuesta inmune innata contra la enfermedad. Esto muy probablemente será el resultado del aumento en la cantidad y/o la actividad de las células T

efectoras. Aunque teóricamente las células T reguladoras aún serán producidas, el refuerzo del sistema inmune permite que el sujeto controle adecuadamente la enfermedad antes de la aparición de las células T reguladoras. Este escenario podría explicar por qué los estudios anteriores han demostrado que las vacunas antitumorales y contra el VIH son solamente exitosas en un pequeño número de individuos. Más específicamente, sólo hay una pequeña posibilidad de que la vacuna sea administrada al mismo tiempo, que se esté produciendo la respuesta inmune innata a la enfermedad. Otros momentos de administración en el estado del arte se producen cuando hay grandes cantidades y/o actividad de las células reguladores, o en momentos en los que se desacopla la fluctuación natural del sistema inmune.

Tal vacuna comprenderá al menos un antígeno, o un polinucleótido que codifica dicho antígeno. La vacuna se puede proporcionar como cualquier forma conocida en la técnica, tal como, pero no limitado a, una vacuna de ADN, la ingestión de un organismo transgénico que expresa el antígeno, o la composición que comprende el antígeno.

Como se usa en este documento, un "antígeno" es cualquier secuencia de polipéptido que contiene un epítopo que es capaz de producir una respuesta inmune contra la enfermedad.

Los antígenos que son capaces de elevar una respuesta inmune contra una célula de cáncer son bien conocidos en la técnica. Ciertos antígenos tumorales pueden ser reconocidos y atacados por el sistema inmune. Esta propiedad puede ser debida a la sobreexpresión por el tejido tumoral. Algunos de estos antígenos pueden ser detectados en el tejido normal. Los antígenos tumorales específicos para las células T son generalmente proteínas que son procesadas intracelularmente y presentadas como fragmentos de péptidos cortos enlazados en la ranura de la molécula MHC de clase I tumoral para ser reconocidos por linfocitos T citotóxicos CD8+. La sola presencia de un antígeno tumoral no siempre es suficiente para desencadenar una respuesta inmune. A veces se requieren moléculas coestimuladoras tales como B7.1. Una vez que las células T específicas de antígeno son estimuladas, son capaces de reconocer y destruir el tumor. Las condiciones necesarias para la activación de células T específicas de antígeno son rigurosas, pero están abiertas a la manipulación genética de las células tumorales objetivo y las células T.

Los antígenos que pueden ser utilizados para tratar infecciones, como el VIH, también son bien conocidos en la técnica.

El antígeno puede ser proporcionado de cualquier manera conocida en la técnica que conduzca a una respuesta inmune. Un antígeno puede ser, por ejemplo, nativo, recombinante o sintético. Los antígenos nativos se pueden preparar, por ejemplo, proporcionando lisados celulares de una célula tumoral.

Las vacunas pueden prepararse a partir de uno o más antígenos. La preparación de vacunas que contienen un antígeno es conocida por las personas expertas en la técnica. Típicamente, tales vacunas se preparan como soluciones inyectables, orales o, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas; formas sólidas adecuadas para disolución en, o suspensión en, líquido antes de la inyección o el consumo oral también se pueden preparar. La preparación también se puede emulsionar, o encapsular la proteína en liposomas. El antígeno se mezcla a menudo con vehículos/excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo. Los vehículos/excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol, o similares y combinaciones de los mismos.

Además, si se desea, la vacuna puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes reguladores del pH, y/o adyuvantes que mejoran la efectividad de la vacuna.

Típicamente, las vacunas comprenden un adyuvante. Tal como se utiliza aquí, el término "adyuvante" significa una sustancia que mejora de forma no específica la respuesta inmune a un antígeno. Ejemplos de adyuvantes que pueden ser eficaces incluyen pero no se limitan a: N-acetil-muramil-L-treonil-D-isoglutamina (thr-MDP), N-acetil-nor-muramil-L-alanil-D-isoglutamina (CGP 11637, denominada como nor-MDP), N-acetilmuramil-L-alanil-D-isoglutaminil-L-alanina-2-(1'-2'-dipalmitoil-sn-glicero-3-hidroxifosforiloxi)-etilamina (CGP 19835 A , denominada como MTP-PE), y RIBI, que contiene tres componentes extraídos de bacterias, lípido A monofosforilo, dimicolato de trehalosa y el esqueleto de la pared celular (MPL + TDM + CWS) en una emulsión de 2% de escualeno/Tween 80. Otros ejemplos de adyuvantes incluyen hidróxido de aluminio, fosfato de aluminio, sulfato de aluminio y potasio (alumbre), endotoxina bacteriana, lípido X, *Corynebacterium parvum* (*Propionobacterium acnes*), *Bordetella pertussis*, polirribonucleótidos, alginato de sodio, lanolina, lisolecitina, vitamina A, saponina, liposomas, Levamisol, DEAE-dextrano, copolímeros bloqueados u otros adyuvantes sintéticos. Tales adyuvantes están disponibles comercialmente a través de varias fuentes, por ejemplo, Adyuvante 65 de Merck (Merck and Company, Inc., Rahway, NJ.) o adyuvante incompleto y adyuvante completo de Freund (Difco Laboratories, Detroit, Michigan).

La proporción de antígeno y adyuvante se puede variar en un amplio intervalo siempre que ambos estén presentes en cantidades efectivas. Por ejemplo, el hidróxido de aluminio puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0,5% de la mezcla de la vacuna (con base en Al_2O_3).Convenientemente, las vacunas se formulan para contener una concentración final de polipéptido antigénico en el intervalo de 0,2 a 200 µg/ml, preferiblemente de 5 a 50 µg/ml, más preferiblemente 15 µg/ml.

Después de la formulación, la vacuna se puede incorporar en un recipiente estéril que luego se sella y se almacena a

una temperatura baja, por ejemplo 4ºC, o se puede liofilizar. La liofilización permite almacenamiento durante un largo plazo en una forma estabilizada.

Las vacunas se administran convencionalmente en forma parenteral, mediante inyección, por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular. Las formulaciones adicionales que son adecuadas para otros modos de administración incluyen supositorios y, en algunos casos, formulaciones orales. Para los supositorios, los aglutinantes y vehículos tradicionales pueden incluir, por ejemplo, polialquilenglicoles o triglicéridos; tales supositorios pueden formarse a partir de mezclas que contienen el ingrediente activo en el intervalo de 0,5% a 10%, preferiblemente de 1% a 2%. Las formulaciones orales incluyen excipientes empleados normalmente tales como, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, y similares. Estas composiciones toman la forma de soluciones, suspensiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, formulaciones de liberación sostenida o polvos y contienen 10% a 95% de ingrediente activo, preferiblemente 25% a 70%. Cuando se liofiliza la composición de vacuna, el material liofilizado puede reconstituirse antes de la administración, por ejemplo, como una suspensión. La reconstitución se efectúa preferiblemente en regulador.

Cápsulas, comprimidos y píldoras para administración oral a un paciente pueden proporcionarse con un recubrimiento entérico que comprende, por ejemplo, Eudragit "S", Eudragit "L", acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa o hidroxipropilmetil celulosa.

La vacunación con ADN implica la introducción directa in vivo de ADN que codifica un antígeno dentro del tejido de un sujeto para la expresión del antígeno por parte las células del tejido del sujeto. Tales vacunas se denominan en este documento "vacunas de ADN" o "vacunas basadas en ácido nucleico". Las vacunas de ADN se describen en los documentos US 5.939.400, US 6.110.898, WO 95/20660 y WO 93/19183.

Hasta la fecha, la mayoría de las vacunas de ADN en sistemas de mamíferos se han basado en los promotores virales derivados de citomegalovirus (CMV). Estos han tenido una buena eficiencia tanto en la inoculación muscular como en la piel en una cantidad de especies de mamíferos. Un factor conocido para afectar a la respuesta inmune provocada por la inmunización con ADN es el método de suministro de ADN, por ejemplo, las vías parenterales pueden proporcionar índices bajos de transferencia de genes y producir una variabilidad considerable de expresión génica. La inoculación a alta velocidad de los plásmidos, utilizando una pistola de genes, mejoró las respuestas inmunes de ratones, presumiblemente debido a la mayor eficiencia de transfección de ADN y presentación más efectiva del antígeno por las células dendríticas. Los vectores que contienen la vacuna a base de ácido nucleico de la invención también pueden introducirse en el huésped deseado mediante otros métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, transfección, electroporación, microinyección, transducción, fusión celular, DEAE dextrano, precipitación con fosfato cálcico, lipofección (fusión de lisosoma), o un transportador del vector de ADN.

Las plantas transgénicas que producen un polipéptido antigénico pueden construirse usando procedimientos bien conocidos en la técnica. Un número de vacunas comestibles derivadas de plantas se están desarrollando actualmente tanto para patógenos humanos como animales. Las respuestas inmunes también son el resultado de la inmunización oral con plantas transgénicas que producen partículas similares a virus (VLP), o virus de plantas quiméricas que presentan epítopos antigénicos. Se ha sugerido que la forma particulada de estas VLP o virus quiméricos puede resultar en una mayor estabilidad del antígeno en el estómago, incrementando efectivamente la cantidad de antígeno disponible para la absorción en el intestino.

Otro ejemplo de una terapia que puede ser administrada en un método de la invención es ARNbc. El ARNbc se utiliza ARN de interferencia (ARNi) que es un fenómeno en el que después de la introducción en una célula, el ARNm homólogo al ARNbc es específicamente degradado de modo que se suprime la síntesis de productos génicos. Ejemplos de un agente tal que causa ARNi incluyen, pero no se limitan a, una secuencia que tiene al menos aproximadamente 70% de homología con la secuencia de ácido nucleico de un gen objetivo o una secuencia hibridable en condiciones rigurosas, ARN que contiene una porción de doble hebra que tiene una longitud de al menos 10 nucleótidos o variantes del mismo. Los ejemplos de genes objetivo incluyen, pero no se limitan a, un gen necesario para la replicación o la supervivencia de una célula T reguladora.

Se puede usar ARNbc que tiene una longitud de aproximadamente 20 bases (por ejemplo, de forma representativa aproximadamente 21 a 23 bases) o aproximadamente menos de 20 bases, que se llama ARN de pequeña interferencia (ARNpi) en la técnica. La expresión de ARNpi en células puede suprimir la expresión de un gen dirigido por el ARNpi. En otra realización, un agente capaz de causar ARNi puede tener una estructura de horquilla corta que tiene una porción pegajosa en el extremo 3' (ARNhc; ARN de horquilla corta). Como se utiliza aquí, el término "ARNhc" se refiere a una molécula de aproximadamente 20 o más pares de bases en el cual un ARN monocatenario contiene parcialmente una secuencia de bases palindrómicas y forma una estructura de doble hebra allí (es decir, una estructura de horquilla). El ARNhc puede ser artificialmente sintetizado químicamente. Alternativamente, el ARNhc puede ser producido mediante enlazamiento de cadenas sentido y antisentido de una secuencia de ADN en direcciones inversas y la síntesis de ARN in vitro con ARN polimerasa T7 utilizando el ADN como plantilla. La longitud de la porción de doble cadena no está particularmente limitada, pero es preferiblemente aproximadamente de 10 o más nucleótidos, y más preferiblemente de aproximadamente de 20 o más nucleótidos. El "extremo sobresaliente 3' puede ser preferentemente

ADN, más preferentemente ADN de al menos 2 nucleótidos de longitud, e incluso más preferiblemente ADN de 2-4 nucleótidos de longitud.

Un agente capaz de causar ARNi útil para la invención se puede sintetizar artificialmente (química o bioquímicamente) o de origen natural. No hay sustancialmente ninguna diferencia entre ellos en términos del efecto de la presente invención. Un agente sintetizado químicamente se purifica preferentemente por cromatografía líquida o similar.

Un agente capaz de causar ARNi utilizado en la presente invención también puede ser producido in vitro. En este sistema de síntesis, la ARN polimerasa T7 y el promotor T7 pueden ser utilizados para sintetizar los ARN antisentido y sentido a partir de la plantilla de ADN. Estos ARN se hibridan y, posteriormente, se introducen en una célula.

El ARNbc se puede suministrar al sujeto usando cualquier medio conocido en la técnica. Los ejemplos de métodos de administración de ARNbc a un paciente se describen en, por ejemplo, en los documentos US 20040180357, US 20040203024 y US 20040192629.

Terapias para el tratamiento de una enfermedad caracterizada por la producción de células T efectoras

La terapia puede ser cualquier agente, factor o tratamiento que resulta en la destrucción selectiva o no selectiva, limita la función de, o la inhibición de la producción, de células T efectoras. Por ejemplo, se podría utilizar un anticuerpo específico para CD8+ para dirigirse específicamente a las células T CD8+. Sin embargo, en algunos casos se podría utilizar una terapia no selectiva, tal como un fármaco antiproliferativo, un fármaco antimetabólico o radiación, cada una de los cuales se dirige a las células en división. En particular, como con otros tipos de células, las células T efectoras son particularmente vulnerables a la destrucción por parte de fármacos antimitóticos (antiproliferativa) drogas o venenos del huso (por ejemplo, vinblastina o paclitaxel) cuando se dividen y específicamente en la mitosis.

Cada uno de los tipos anteriormente mencionados de terapias también son útiles para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por la producción de células T efectoras. Con respecto a ARNbc, la molécula de ARNbc puede ser específica para los ARNm expresados sólo en células T efectoras. Además, los anticuerpos útiles para el tratamiento de estas enfermedades se unen a moléculas presentes en las células T efectoras tales como CD8.

Preferiblemente, para estas enfermedades se administra la terapia, o la estimación de la hora preferida para la administración, de tal que la actividad de las células T reguladoras no se reduce significativamente. Más específicamente, la sincronización es tal que la terapia ejerce un efecto proporcionalmente mayor contra las células T efectoras que las células T reguladoras. Se prefiere claramente administrar el agente en un momento en que la relación del efecto contra las células T efectoras con respecto al efecto contra las células T reguladoras es mayor. En una realización preferida, la terapia para el tratamiento de una enfermedad caracterizada por la producción de células T efectoras se administra justo antes o justo después de que las células T efectoras se expandan clonalmente.

Marcadores inflamatorios de fase aguda

Algunos marcadores inflamatorios de fase aguda aumentan inicialmente durante una respuesta inmune (denominados en adelante marcadores inflamatorios de fase aguda positiva), mientras que otros decrecen inicialmente durante una respuesta inmune (denominados en adelante como marcadores inflamatorios de fase aguda negativa). Los marcadores inflamatorios de fase aguda también se denominan en la técnica como reactivos de fase aguda o proteínas de fase aguda. El destinatario experto será consciente de los muchos ensayos que se pueden usar para controlar los marcadores inflamatorios de fase aguda.

Ejemplos de marcadores inflamatorios de fase aguda positiva incluyen, pero no se limitan a, proteína c reactiva , componente del amiloide A en suero, componente del amiloide P en suero, proteínas del complemento tales como C2, C3, C4, C5, C9, B, inhibidor de C1 y proteína de enlazamiento a C4, fibrinógeno, factor de von Willebrand, α1-antitripsina, α1-antiquimotripsina, α2-antiplasmina, cofactor II de heparina, inhibidor I del activador del plasminógeno, haptoglobina, hemopexina, ceruloplasmina, manganeso superóxido dismutasa, glicoproteína del ácido α1, hemo oxigenasa, proteína de enlazamiento a manosa, proteína I de leucocitos, lipoproteína (a), proteína de enlazamiento a lipopolisacárido, e interleuquinas tales como IL-I, IL-2, IL-6, IL-10 y los receptores de los mismos.

Ejemplo de marcadores inflamatorios de fase aguda negativo incluyen, pero no se limitan a, albúmina, prealbúmina, transferrina, apoAI, apoAII, glicoproteína HS α2, inhibidor de inter-α-tripsina, glicoproteína rica en histidina.

El amiloide A en suero (SAA) fue descubierto como un componente de plasma que comparte antigenicidad con amiloide AA, el componente fibrilar principal en depósitos de amiloide AA reactivos. SAA ha demostrado ser un reactante de fase aguda cuyo nivel en sangre se eleva a 1.000 veces o más como parte de las respuestas del cuerpo a varias lesiones incluyendo trauma, infección e inflamación.

Los niveles de SAA pueden determinarse como se conoce en la técnica, véase, por ejemplo, Weinstein y colaboradores

(1984), Liuzzo y colaboradores (1994), O'Hara y colaboradores (2000), Kimura y colaboradores (2001) y O'Hanlon y colaboradores (2002).

La proteína C-reactiva (CRP) es una importante proteína de respuesta a la fase aguda positiva, y su concentración en suero puede aumentar tanto como 1,000 veces durante la respuesta a la fase aguda. La CRP es un pentámero que consiste de cinco subunidades idénticas, cada una con un peso molecular de aproximadamente 23.500.

Los niveles de proteína C reactiva se pueden determinar usando técnicas conocidas en el arte, estas incluyen, pero no se limitan a, aquellas divulgadas en Senju y colaboradores (1983), Weinstein y colaboradores (1984), Price y colaboradores (1987), Liuzzo y colaboradores (1994), Eda y colaboradores (1998), Kimura y colaboradores (2001) y O'Hanlon y colaboradores (2002).

Las proteínas del complemento son un grupo de al menos 20 componentes inmunológicamente distintos. Normalmente circulan en la sangre en una forma inactiva. Ellos son capaces de interactuar secuencialmente con complejos antígeno - anticuerpo, entre sí y con las membranas celulares de una manera compleja pero adaptable para destruir virus y bacterias y patológicamente, incluso las células huésped propias. Los niveles anormales en suero de proteínas del complemento pueden deberse a enfermedades ya sea heredadas o adquiridas. Al menos niveles circulantes de C3 y C4 reflejan un equilibrio entre el consumo de complemento debido a la formación del complejo inmune y aumento de la síntesis debido a la respuesta de fase aguda. Los métodos para medir los niveles de proteína del complemento son bien conocidos en la técnica.

Los niveles de diferentes interleuquinas también se pueden determinar usando procedimientos conocidos en la técnica tales como mediante el uso del kit de ensayo de citoquinas ProteoPlex^{MR} (EMD Biosciences Inc., CA, EE.UU.).

Seguimiento de los sujetos

En la mayoría de los casos, el momento en el que se debe administrar la terapia deberá ser determinada empíricamente en los sujetos en diferentes etapas de la enfermedad ya que sus cinéticas de la respuesta inmune puede variar. Otros factores tales como la salud general del sujeto y/o la composición genética del sujeto repercuten también sobre cuándo es el momento apropiado para administrar la terapia.

Técnicas conocidas en el arte pueden ser utilizadas para controlar el crecimiento de la población de células T efectoras y/o reguladoras durante el "ciclo". Las muestras seriales de sangre se pueden recoger y detectar cuantitativamente los subconjuntos de células T (tales como CD4+ y/o CD8+) mediante análisis FACS, o mediante los niveles del los marcadores de fase aguda como se describió anteriormente.

De manera óptima, se continúa el seguimiento para determinar el efecto de la terapia. La ablación insuficiente, el re-surgimiento de las células T efectoras o células T reguladoras (dependiendo del estado de enfermedad que se está tratando) significará que el método de la presente invención debe repetirse. Tales ciclos repetidos de tratamiento pueden generar una memoria inmunológica. Por lo tanto, es posible que la presente invención, usada de manera repetitiva, puede proporcionar algún efecto protector profiláctico.

El seguimiento se puede realizar en un laboratorio de prueba central, o por lo menos en algunos casos en algún otro lugar que sea conveniente para el paciente tal como mediante el uso de un dispositivo en punto de atención. Los ejemplos de dispositivos de control adecuados en puntos de atención son producidas por Universal Biosensores (Rowville, Australia) (véase el documento US 20060134713), Axis-Shield PoC AS (Oslo, Noruega) y Clinical Lab Products (Los Angeles, EE.UU.).

Ejemplos

Ejemplo 1 - ensayo clínico y análisis de datos

Métodos y métodos

Pacientes, tratamiento y seguimiento

Se llevó a cabo un estudio clínico piloto sobre 12 pacientes con melanoma metastásico (edad promedio 61; 4 mujeres; 7 con enfermedad MIc) en la Clínica Mayo, Rochester, Minnesota, EE.UU. conducido por el Dr. Svetomir Markovic. Se hicieron mediciones seriales de CRP cada 2-3 días durante 2 semanas. Se identifico el ciclo de oscilación de la CRP mediante análisis de los datos en bruto sin modelamiento asistido por ordenador y se inició una quimioterapia con temozolomida (200 mg/m2 durante 5 días, cada 28 días). Los pacientes fueron evaluados para los puntos finales de respuesta clínica e inmunológica cada 8 semanas hasta progresión.

Análisis de la fluctuación del sistema inmune

En la realización descrita, la forma del modelo es:

$$\log(CRP_i) = \cos\left(2\pi \times \frac{(\text{día}_i - \text{desfase})}{\text{período}}\right) \times \text{amplitud} + \text{media} + \varepsilon_i,$$

Es decir, el logaritmo natural de CRP de un paciente en el día i se considera una función armónica, cuando los parámetros (período, desfase, media y amplitud) de la curva se desconocen, y se calculan a partir de los datos. Los supuestos que son necesarios para tener una confianza razonable en el modelo son que: la forma del modelo es correcto; los ε_i residuales ~ N (0, σ^2); y los residuales son independientes.

Esta forma de realización utiliza el logaritmo natural debido a extensas pruebas que sugieren que de otro modo, el algoritmo de ajuste se ve fuertemente afectado por las observaciones que son inusualmente altas. Además, como la medición de CRP se refiere a una concentración, que está obligada a ser mayor que cero, es natural que se pruebe la transformación logarítmica.

La forma del modelo es no lineal. La consecuencia de la no linealidad es que con el fin de estimar los parámetros del modelo, es necesario designar un punto de partida para cada uno. Una consecuencia de esta necesidad es que los valores predichos pueden depender de los valores iniciales, especialmente en los casos cuando los datos son escasos. Con el fin de proporcionar una cierta objetividad, la presente realización utiliza tres puntos de partida para el período, durante tres ajustes independientes del modelo. Esto permite que cualquier disparidad entre los resultados sea considera una indicación de una pobre calidad de los datos.

Aunque esta realización utiliza una forma de modelo definida por una curva sinusoidal para estimar la periodicidad de la fluctuación del biomarcador, se apreciará que cualquier otra técnica de regresión periódica adecuado pueden ser utilizada. Un ejemplo es el análisis de Fourier, que es adecuado para aplicaciones en las que las mediciones no siguen una relación simétrica como una curva sinusoidal. En este caso, las mediciones se pueden ajustar en una serie finita de Fourier, que es una suma de curvas de seno y coseno finitos y permite considerar armónicos más altos.

En forma adicional o alternativamente, algoritmos de aprendizaje automático se pueden usar para estimar la periodicidad de la fluctuación del biomarcador, tales como:

(a) El análisis de regresión Bayesiano, que consiste en determinar una función de la relación entre las mediciones (marcadoras) y la periodicidad (período), y calculando una distribución condicional de probabilidad posterior, la periodicidad condicional sobre las mediciones, es decir, p (período/ marcador)

(b) La red neural artificial, donde las mediciones (marcador) se definen como nodos de entrada, y la periodicidad de la fluctuación de las mediciones (período) como nodo de salida. Cada nodo de entrada se multiplica por un peso al azar, y la relación entre los nodos de entrada y el nodo de salida es un oculto en el nodo oculto. Los pesos se calculan hasta que se obtiene una curva de mejor ajuste de la periodicidad como una función de las mediciones. El funcionamiento de la estimación de los pesos se conoce como formación.

(c) Algoritmos de clasificación, cuando las mediciones (marcador) se clasifican o se colocan en grupos sobre la base de una o más características inherentes de las mediciones. La clasificación es una forma de aprendizaje automático supervisado, donde se pueden utilizar clasificadores tales como redes neuronales, máquinas de vectores de soporte y agrupaciones de la media k. Las técnicas de regresión se pueden utilizar, cuando una selva aleatoria es una colección de predictores de árboles que están construidos cada uno independientemente de los otros usando un vector aleatorio.

Ajuste

El enfoque de ajuste del modelo procede de la siguiente manera. Los siguientes pasos se repiten para tres estimaciones diferentes de partida del período: 5 días, 7 días, y 9 días.

1) Utilización de un algoritmo de optimización de Byrd y colaboradores (1995) que permite las limitaciones de caja sobre los parámetros estimados para maximizar la probabilidad de las observaciones condicionales sobre el modelo, los datos y la distribución subyacente asumida. Esto se hace para t con grados de libertad entre 3, 5, 10, 20, 40, 70, 100, y 1.000, que difieren en su tolerancia a los valores atípicos. Las limitaciones de la caja ayudan a guiar la optimización en regiones biológicamente realistas.

2) Si los ajustes del modelo descrito en la etapa anterior fallan, se repite la estrategia usando el mismo algoritmo, pero sin las limitaciones de la caja.

3) Se elige el modelo que tiene la probabilidad logarítmica más alta.

4) Las estimaciones de parámetros se utilizan para estimar el tiempo restante hasta el siguiente pico desde el día actual asumido, que depende del retraso desde la medición final.

5) Se reportan los estimados de los parámetros, sus errores estándar asintóticos, y el tiempo de espera estimado. Estos factores son integrados por el analista para establecer el mejor momento posible para el tratamiento, o el mejor momento posible para mediciones adicionales, condicionadas al modelo.

Evaluación

Una evaluación de la calidad del ajuste y la fiabilidad relativa de las estimaciones, incluyendo el tiempo estimado para esperar hasta el tratamiento, es proporcionada por la construcción de intervalos de confianza. Los intervalos de confianza se basan en la tecnología de arranque (Davison y Hinkley, 1997), utilizando los así llamados intervalos paramétricos, normales de arranque.

Estos intervalos generados aleatoriamente están diseñados para cubrir el verdadero valor sobre 95% del tiempo, pero su comportamiento se garantiza sólo en muy grandes tamaños de muestra. Intervalos normales parecen tener el mejor patrón general de comportamiento.

Interpretación

Cada informe del paciente comprende dos paneles; (1) un gráfico de datos del paciente, y (2) un gráfico de datos de pacientes con modelos superpuestos. Omitimos el primer panel para ahorrar espacio. Cada gráfico muestra una línea gris vertical; Esta línea representa "hoy" y permite el hecho de que haya más a menudo retrasos entre la toma de la medición final y el tiempo de análisis de datos. Por ejemplo, en la Figura 7, el análisis se llevó a cabo el 14 de agosto, y la última medición fue tomada el 9 de agosto.

El segundo panel proporciona una predicción de cuándo tratar al paciente (en la actualidad encarado por el pico del ciclo), junto con una cantidad considerable de información de diagnóstico. El tiempo de espera óptimo estimado (en días) es el presentado en la primera columna del cuadro de leyenda.

La información de diagnóstico se utiliza para evaluar la calidad de la predicción.

- El panel contiene hasta tres líneas del modelo. La superposición de las líneas introduce cierta confusión visual. Esto es una ventaja, ya que refleja la confusión del algoritmo sobre el modelo real.

  - Estas tres líneas representan tres puntos de partida diferentes para el modelo. Idealmente, las tres serán coincidentes, lo que implica que las predicciones del modelo son idénticas, independientemente del punto de partida. Si las tres líneas no son coincidentes, entonces se requieren más mediciones, y se deben tomar en momentos en que las líneas proyectadas estén tan distantes entre sí como sea posible, para una mejor resolución.

  - Si no se pueden obtener más datos entonces se debe utilizar la línea que corresponde al valor más alto de 11 (probabilidad logarítmica reportada en la caja), sometidos a los siguientes calificadores.

  - El cuadro de leyenda también reporta el período estimado, P. Los exámenes anteriores de estos datos sugieren que es común un período cercano a 7. Los períodos más allá de 7 deben ser tratados con sospecha.

  - Se debe hacer un examen visual y comparación de las curvas. A veces es posible distinguir entre curvas de competición por el ojo si las estadísticas son ambiguas.

- Cuando se elige la curva, debe ser interpretada. El cuadro de la leyenda reporta WL, que es la longitud aproximada del intervalo de confianza del 95% del tiempo espera esperado, en días. Esta cantidad reporta la incertidumbre con base en los datos del tiempo de espera. Si este número es demasiado alto, entonces se refiere a WO. WO es la longitud aproximada del intervalo de confianza del 95% del desfase. Si este número es bajo cuando WL es alta, entonces la alta variabilidad en el tiempo de espera es un artefacto de que tan cerca esta "hoy" del mejor tiempo del tratamiento. En ese caso, nos preocupamos menos por la variabilidad de WL. Si tanto WL como OL son altos, se necesitan más datos.

Resultados

Los resultados de cada uno de los pacientes se describen a continuación que incluye un sistema de clasificación utilizado para tratar de identificar a los pacientes cuyos datos se podría utilizar de forma fiable por el modelo. La

calificación fue de 1 (peor) a 5 (mejor). Clasificación 5 indicó que los inventores estaban satisfechos de que los datos corresponden al modelo, así como podría esperarse. 1 indica que los inventores tenían pocas esperanzas de que el modelo sería fiable.

Paciente 1

El tratamiento parece haber sido aplicado justo antes del pico de actividad del sistema inmune (Figura 7). WL es muy grande, pero OL es mucho más pequeña; esto sugiere que el tamaño de WL es un artefacto de la definición del modelo. Sin embargo, hay más de una curva, por lo que la calificación fue penalizada - Calificación: 4.

Paciente 2

El análisis de los modelos sugiere que el fármaco se administró al paciente 2 cuando el sistema inmune alcanzó su punto máximo (Figura 8). WL es muy alto, pero OL muy baja, esto sugiere que el tamaño de WL es un artefacto de la definición del modelo. Hay más de una curva, por lo que la calificación fue penalizada - Calificación: 4.

Paciente 3

El análisis de los modelos sugiere que el fármaco se administró al paciente 3 en la fase descendiente del sistema inmune (Figura 9). WL es baja para las tres curvas. Hay más de una curva, por lo que la calificación fue penalizada - Calificación: 4.

Paciente 4

El análisis sugiere que el tratamiento fue justo después de pasada la mitad de la pendiente (Figura 10), sin embargo, más muestreo habría proporcionado una determinación más clara - Clasificación: 1.

Paciente 5

El tratamiento parece haber sido aplicado justo después del pico de la actividad del sistema inmune (Figura 11). WL es baja. Hay más de una curva, por lo que la calificación fue penalizado - Calificación: 4.

Paciente 6

Desafortunadamente, el tratamiento se aplicó en el día de la tercera medición, por lo tanto sería preferible tener más datos - Puntuación: 1 (Figura 12). Los datos disponibles sugieren que el tratamiento se aplicó en el comienzo de la fase descendente del ciclo inmune.

Paciente 7

El análisis sugiere que el tratamiento se aplicó algún tiempo después del pico del sistema inmune (Figura 13), sin embargo, un mayor muestreo habría proporcionado una determinación más clara - Clasificación: 1.

Paciente 8

Para el paciente 8 las curvas están de acuerdo con la localización relativa del tratamiento: en el pico de actividad del sistema inmune (Figura 14). Hay más de una curva, por lo que la calificación fue penalizada - Calificación: 4.

Paciente 9

La ubicación relativa del tratamiento es durante la fase descendente de la actividad del sistema inmune (Figura 15). Los inventores tienen una confianza razonable en la ubicación de los datos de este paciente - Calificación: 4.

Paciente 10

Afortunadamente las curvas básicamente están de acuerdo con la localización del tratamiento: justo en o después del pico (Figura 16). WL es alta - Calificación: 3.

Paciente 11

Los datos sugieren fuertemente que el tratamiento se aplicó justo al comienzo de la fase ascendente. WL es muy pequeña (Figura 17). Hay más de una curva, por lo que la calificación fue penalizada - Calificación: 4.

Paciente 12

El tratamiento se aplicó justo antes del pico de la actividad del sistema inmune (Figura 18). Todas las curvas están de acuerdo, y OL es pequeño - Calificación: 5.

Resumen

Todos los 12 pacientes mostraron niveles oscilantes de CRP con una periodicidad promedio de 7.8 días. Únicamente 11 pacientes fueron tratados (1 paciente presentó progresión tumoral rápida). Los dos pacientes que permanecen sin progresión durante más de 2 años (1 PR, 1 CR), fueron tratados en la sección previa del pico del ciclo de CRP, separados en forma clara de los otros pacientes tratados después del pico de CRP(todos progresaron <5 meses).

Una visión general de los tiempos de tratamiento predichos para el paciente se proporciona en la Figura 19. El número de pacientes representados por encima de la línea se asignan con una alta calificación (confianza) (4-5), los números por debajo de la línea se asignan con baja confianza (1-2), los números sobre la línea tienen calificación promedio (3).

Estos datos sugieren que la evolución clínica del paciente depende del tiempo de la terapia con relación al ciclo de la respuesta inmune de un paciente individual y delinear el equilibrio dinámico de la homeostasis inmune sistémica en pacientes con melanoma avanzado. Estos datos sugieren que el momento óptimo de la administración de la terapia para tratar el cáncer en relación con los niveles de PCR fluctuantes están al menos aproximadamente a mitad de camino hasta la subida de los niveles de PCR, pero antes de que hayan alcanzado su punto máximo.

Ejemplo 2 - Modelación para predecir la sincronización preferida de administración - Evaluación del protocolo

Introducción

La prueba del software comprende dos partes principales: el uso del software sobre los datos de pacientes reales y simulados y un estudio de simulación. El objetivo general del algoritmo es hacer la predicción lo más exacta posible. Los inventores pueden evaluar su capacidad para hacerlo en casos simples y fáciles de captar, como un medio para desarrollar la intuición acerca de cómo se llevará a cabo en casos complejos que son más difíciles de entender.

Pacientes simulados

Este ejemplo proporciona una demostración de la utilización del algoritmo de ajuste en pacientes simulados.

Se generaron pacientes aleatorios de la siguiente forma:

> p. aleatorio <- paciente (identificación = "15 mediciones diarias", retraso = 5, aleatorio = VERDADERO, + cv = 75, parámetros = c (7, 2, 2, 1), días de retraso = 0:14)

Se apreciará que los pacientes aleatorios se pueden generar usando cualquier entorno de cómputo estadístico adecuado, tal como el lenguaje de programación de fuente abierta R y MATLAB.

El paciente aleatorio se procesa luego y se reporta usando el siguiente código -> reporte (p. aleatorio). Obsérvese que cada paciente simulado tiene una curva armónica gris claro. Esta es la curva que se utilizó para generar los datos del paciente, por lo que se puede considerar como la "verdad" de que nuestro algoritmo está tratando de coincidir. Los inventores experimentaron con la variabilidad subyacente hasta que se encontró que el nivel parecía en consonancia con la variabilidad observada en los datos de los pacientes medidos.

Variabilidad baja

Los inventores comenzaron con escenarios de baja variabilidad aquí para proporcionar una idea de cómo funciona el algoritmo de ajuste para los pacientes "ideales".

La Figura 20 muestra un escenario típico de seis mediciones espaciadas con dos días de diferencia. La variabilidad y mal ajuste creado por este diseño están razonablemente bien capturados en la figura. La longitud de los intervalos de confianza del 95% del tiempo de espera estimado (WL) es lo suficientemente bajo para la predicción satisfactoria, pero la elección del modelo no es inequívoca.

La figura 21 muestra seis mediciones espaciadas con un día de diferencia. Este escenario ofrece una advertencia oportuna: en un ciclo de siete días, midiendo a los equivocados seis días puede ser engañoso. Aquí, el modelo es incierto del período debido a los errores en las medidas y el pequeño número de mediciones. La longitud de los intervalos de confianza del 95% de tiempo de espera estimado la (WL) es alto en este caso.

La figura 22 muestra diez mediciones diarias. La ventaja de cuatro mediciones adicionales es clara. La curva predicha coincide con la curva real bastante bien.

La figura 23 muestra diez mediciones espaciadas a través de dos semanas, con un mayor enfoque en la segunda semana. Una vez más la curva predicha coincide bien con la curva real. La longitud del intervalo de confianza 95% del tiempo de espera estimado (WL) es lo suficientemente bajo para una predicción satisfactoria.

La figura 24 muestra quince mediciones diarias. Una vez más la curva predicha coincide bien con la curva real. La longitud del intervalo de confianza de 95% del tiempo de espera estimado (WL) es suficientemente bajo para una predicción satisfactoria.

La visión general de estas simulaciones es que el algoritmo funciona bien para los pacientes de variabilidad baja.

Variabilidad Alta

Aquí se analizan cinco escenarios de variabilidad alta para proporcionar un sentido de cómo funciona el algoritmo de ajuste para los pacientes "difíciles".

La figura 25 muestra un escenario típico de seis mediciones espaciadas dos días de diferencia. La variabilidad y mal ajuste creado por este diseño están razonablemente bien capturados en la figura. La longitud de los intervalos de confianza del 95% del tiempo de espera estimado es bajo, pero no lo suficientemente bajo para una predicción satisfactoria.

La figura 26 muestra seis mediciones espaciadas con un día de diferencia. Este escenario ofrece una advertencia oportuna: en un ciclo de siete días, midiendo en los seis días equivocados puede ser extremadamente engañosa. Aquí, el modelo no logra captar la periodicidad debido a los errores en las medidas y el pequeño número de mediciones. Se observan banderas de precaución en la estimación del período excepcionalmente grande, pero en ninguna otra parte en nuestros diagnósticos.

La figura 27 muestra diez mediciones diarias. La ventaja de cuatro mediciones adicionales es clara. La curva predicha coincide con la curva real bastante bien, aunque la importancia de la oportunidad es también obvia. Dentro de las pocas semanas de la última medición, la ventana estimada del tratamiento, probablemente ya no se superpone a la ventana real. Esto es motivo de preocupación incluso ignorando la posibilidad de que la respuesta inmune del paciente podría cambiar la sincronización de su propia voluntad, o en respuesta a estímulos.

La figura 28 muestra diez mediciones espaciadas a través de dos semanas, con un mayor enfoque en la segunda semana. Una vez más la curva predicha coincide bien con la curva real. La longitud del intervalo de confianza del 95% del tiempo de espera estimado es baja, pero no lo suficientemente bajo para una predicción satisfactoria.

La figura 29 muestra quince mediciones diarias. Una de las curvas ha perdido el patrón completo, pero si seguimos nuestro algoritmo entonces la predicción a partir de esta curva no se utilizaría de todos modos. La visión general de los pacientes aleatorios de alta variabilidad es menos alentador, lo cual es un resultado esperado. Como la variabilidad subyacente de la señal aumenta, se puede confiar menos en que los datos nos informen acerca de la naturaleza de la señal verdadera.

Conclusiones

Los resultados sugieren que la estrategia propuesta puede ser bien defendida y funciona bajo una amplia gama de circunstancias diferentes. Sin embargo, hay que tener cuidado en su aplicación, y los conjuntos de datos de tamaño razonable (por ejemplo, al menos 10) dará lugar a mejores resultados. Si el tamaño de la muestra es demasiado pequeño, entonces se puede exagerar la confianza con la que la técnica identifica la ubicación de la ventana de tratamiento.

Ejemplo 3 – Estudio de simulación

Materiales y métodos

Los presentes inventores utilizaron el modelo y algoritmo de ajuste tal como se establece en el Ejemplo 1. El éxito fue evaluar el impacto sobre el rendimiento de predicción del número de medidas adoptadas, el plazo durante el cual se tomaron, y el patrón de espaciado. Es razonable esperar que la variabilidad subyacente de la señal biológica de los pacientes también afectaría la calidad del ajuste del modelo. Por lo tanto el diseño para el estudio de simulación comprende los siguientes elementos:

1. Variación de longitud, incluyendo una, una y media y dos semanas;

2. La variación en número de mediciones, incluyendo 8, 10, 15, y 21;

3. variación en el patrón de medición, incluyendo simétrico (S), a concentración temprana y tardía (B), y a concentración tardía (L); y

4. La variación en la variabilidad subyacente del paciente, incluyendo muy pequeña (0,25%) y variación nominal de CRP (4%) muy grande (30%).

Los inventores simularon 500 pacientes al azar con cada una de las tres cantidades subyacentes de la variabilidad, cruzados con cada escenario de medición diferente. No se utilizó un diseño experimental factorial completo debido a limitaciones de tiempo. Cada paciente al azar fue ajustado usando el algoritmo propuesto. Para cada paciente se evaluaron la longitud de su intervalo de confianza y si el intervalo contenía o no el valor verdadero a partir del que se había estimulado al paciente.

Resultados

Los resultados completos de las simulaciones se presentan en la Tabla 1, y los resultados específicos para la longitud de intervalo se resumen en la Figura 30. Los resultados para las tasas que cubren el intervalo se resumen en la Figura 31.

Tabla 1: Resultados de las simulaciones. La variabilidad se refiere al coeficiente de variación de los datos; el recuento es el número de mediciones; la duración es el número de días durante el cual se realizaron las mediciones; La simetría se refiere a la distribución de las mediciones a través de los días, incluyendo (S) simétrico, (L) enfoque tardío, y (B) tanto tempranas como tardías; La cobertura es la probabilidad de cobertura simulada (nominalmente 0,95); y longitud es la longitud promedio de los intervalos, en días.

Variabilidad	Recuento	Duración	Simetría	Cobertura	Longitud
0,25	8	8	S	0,714	0,0033
0,25	8	15	S	0,742	0,0027
0,25	15	15	S	0,844	0,0029
0,25	10	15	L	0,780	0,0026
0,25	10	15	B	0,810	0,0033
20,00	8	8	S	0,678	0,2600
20,00	8	15	S	0,676	0,2200
20,00	15	15	S	0,848	0,2500
20,00	15	10	S	0,848	0,4900
20,00	15	8	S	0,874	0,2900
20,00	22	8	S	0,888	0,2700
20,00	22	15	S	0,906	0,2300
20,00	15	10	L	0,860	0,3400
20,00	22	15	L	0,900	0,2100
35,00	8	8	S	0,720	0,5700

Variabilidad	Recuento	Duración	Simetría	Cobertura	Longitud
35,00	8	15	S	0,750	0,4400
35,00	15	15	S	0,870	0,4300
35,00	10	15	L	0,800	0,5000
35,00	10	15	B	0,790	0,5100

Discusión y conclusión

Con base en los datos del paciente que estaban disponibles, la cifra nominal de variación 4% en mediciones de CRP parece muy baja. También es posible que la cifra sea correcta, pero nuestro modelo no logra captar alguna fuente importante de variación. Este estudio sugiere que la técnica de modelado propuesto funciona mejor con al menos un número moderado de puntos de datos, digamos al menos 10. La disposición de los puntos de medición y el lapso de tiempo que ocupan no parece afectar el resultado, al menos a través de todo el intervalo de escenarios comparados aquí. La variabilidad subyacente de las mediciones afecta el resultado, y se deben hacer esfuerzos para asegurar que las mediciones se hagan en la forma más uniforme de recolección de circunstancias que sea posible.

Los éxitos del estudio de simulación fueron de dos tipos: en primer lugar, proporcionar una guía en cuanto a la medición más adecuada del régimen de sincronización; y en segundo lugar, proporcionar una retroalimentación sobre la confiabilidad de la rutina de ajuste. El segundo éxito se aborda aquí.

La medida de la confiabilidad que se centra en la tasa de cobertura dio cuenta de los intervalos aleatorios. La tasa de cobertura nominal es de 0,95, y la cercanía a esta cobertura debe ser considerada como una medida de la calidad del enfoque de ajuste. Sin embargo, con los pequeños tamaños de muestra que estamos utilizando, y la naturaleza del modelo que se está ajustando, sería muy sorprendente alcanzar tasas de cobertura tan altas. Por otra parte, no es esencial que los intervalos logren ninguna tasa de cobertura particular, ya que se están utilizando de manera informal, para proporcionar retroalimentación en cuanto a la confiabilidad de los datos y el modelo, en vez de como una herramienta de inferencia formal.

Las tasas de cobertura y las longitudes de los intervalos del estudio de simulación se reportan en la Tabla 1. El estudio de simulación sugiere que la variabilidad subyacente de la señal no afecta grandemente la calidad de los intervalos, ya que se midieron por la cercanía de la tasa de cobertura hasta 0,95. La cobertura aumenta con el aumento del tamaño de la muestra, lo que parece en gran medida no está afectado por la duración del periodo de medición, la simetría y la variabilidad subyacente (Figura 31).

Los inventores concluyen que para un número suficientemente grande de observaciones, digamos 10 o más, la tasa de cobertura es razonablemente bueno para la técnica de ajuste. Esto proporciona la confianza razonable para la técnica misma, así como el uso de los intervalos como herramientas de diagnóstico para modelación con pacientes reales.

Las muestras que son demasiado pequeñas tendrán una cobertura exagerada, lo que significa que los intervalos son más cortos de lo imaginado. Esto significa que el resultado va a exagerar la confianza con la que podemos identificar la ubicación de la ventana de tratamiento.

Referencias

Allan y colaboradores (2008) Immunol. Rev. 223:391-421.

Annunziato y colaboradores (2002) J. Exp. Med. 193:1285-1294.

Aziz y colaboradores (1998) Cancer Detect. Prev. 22:87-99.

Babbe y colaboradores (2000) J. Exp. Med. 192:393-404.

Belkaid and Rouse (2005) Nat. Immunol. 6:353-360.

Bottazzo y colaboradores (1985) New Engl. J. Med. 313:353-360.

Brusko y colaboradores (2008) Immunol. Rev. 223:371-390.

Byrd y colaboradores (1995) SIAM J. Scientific Computing, 16:1190-1208.

Cao y colaboradores (2009) AIDS Res. Hum. Retroviruses 25:183-191.

Davison and Hinkley (1997) Bootstrap methods and their application. Cambridge University Press.

Dittmer (2004) Immunity 20:293-303.

Eda y colaboradores (1998) J. Clin. Lab. Analysis 12:137-144.

Estes y colaboradores (2007) J. Infect. Dis. 195:551-61.

Gajewski y colaboradores (2009) Clin. Adv. Hematol. Oncol. 7:1-10.

Goverman (1999) Immunol. Rev. 169:147-159.

Hill y colaboradores (1997) Blood 90:3204-3213.

Horvath y colaboradores (1982) Oncology 39:20-22.

Hryniewicz y colaboradores (2006) Blood 108:3834-3842.

Iwashiro y colaboradores (2001) Proc. Natal. Acad. Sci. US 98:9226-9230.

Jonuleit y colaboradores (2001) J. Exp. Med. 193:1285-1294.

Kimura y colaboradores (2001) Cancer 92:2072-2075.

Kinter y colaboradores (2007b) Proc. Natl. Acad. Sci. 104:3390-3395.

Kinter y colaboradores (2004) J. Exp. Med. 200:6331-343.

Kinter y colaboradores (2007a) AIDS Res. Hum. Retroviruses 23:438-450.

Kohm y colaboradores (2002) J. Immunol. 169:4712-4716.

Lim y colaboradores (2006) Immunol. Cell Biol. 84:530-536.

Lim y colaboradores (2007) AIDS 21:1525-1534.

Liuzzo y colaboradores (1994) New Engl. J. Med. 331:417-424.

Monsonego and Weiner (2003) Science 302:834-838.

Murphy and Blazar (1999) Curr Opin Immunol. (1999) 11:509-515.

Nilsson y colaboradores (2006) Blood 108:3808-3817.

North and Awwad (1990) Immunology 71:90-95.

O'Hanlon y colaboradores (2002) Anticancer Res. 22:1289-1294.

O'Hara y colaboradores (2000) Arthritis Res. 2:142-144.

Onizuka y colaboradores (1999) Cancer Res. 59:3128-3133.

Price y colaboradores (1987) J. Immunol. Methods 99:205-211.

Read y colaboradores (2000) J. Exp. Med. 192:295-302.

Rouse y colaboradores (2006) Immunol. Rev. 212:272-286.

Salomon y colaboradores (2000) Immunity 12:431-440.

Santamaria (2001) Curr. Opin. Immunol. 13:663-669.

Senju y colaboradores (1983) Jap. J. Clin. Lab. Automation 8:161-165.

Shimizu y colaboradores (1999) J. Immunol. 163:5211-5218.

Shimizu y colaboradores (2002) Nature Immunol. 3:135-142.

Speiser y colaboradores (1997) J. Immunol. 158:5185-5190.

Suri-Payer and Cantor (2001) J. Autoimmunity 16:115-123.

Sutmuller y colaboradores(2001) J. Exp. Med. 194:823-832.

Takahashi y colaboradores (2000) J. Exp. Med. 192:303-310.

Vahlenkamp y colaboradores (2005) Vet. Immunol. Immunopathol. 108:219-225.

Vahlenkamp y colaboradores (2004) J Immunol. 172:4752-4761.

Vila y colaboradores (2009) Curr. Opin. Hematol. May 2 [publicación electrónica ya disponible]

von Herrath and Harrison (2003) Nature Rev. 3:223-232.

Weinstein y colaboradores (1984) Scand. J. Immunol. 19:193-198.

Weiss y colaboradores (2004) Blood 104:3249-3256.

Wong y colaboradores (1999) Nat. Med. 9:1026-1031.

Wu y colaboradores (2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:12287-12292.

REIVINDICACIONES

1. Un método implementado por ordenador para el análisis de un biomarcador que fluctúa en un sujeto con una enfermedad para determinar un tiempo preferido en el futuro para administrar una terapia para el tratamiento de dicha enfermedad, comprendiendo el método:

a) la estimación de una periodicidad de la fluctuación del biomarcador con base en las mediciones del biomarcador en muestras del sujeto mediante la obtención de una curva de mejor ajuste para las mediciones de acuerdo con un modelo de la fluctuación del biomarcador, en donde el modelo es una técnica de regresión periódica; y

b) determinar a partir de la periodicidad estimada de la fluctuación un tiempo preferido en el futuro para administrar una terapia para tratar la enfermedad en el sujeto mediante la proyección de la curva obtenida de mejor ajuste en el futuro.

2. El método de la reivindicación 1, en donde la curva de mejor ajuste es un ajuste a un modelo armónico de la fluctuación del biomarcador, y la obtención de la curva de mejor ajuste comprende además ajustar el modelo armónico a las mediciones varias veces usando diferentes condiciones iniciales para cada ajuste.

3. El método de la reivindicación 2, que comprende además generar una medida de confianza mediante la comparación de una similitud en un resultado de ajuste producido por cada ajuste.

4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la obtención de la curva de mejor ajuste comprende, además, imponer una restricción de cuadro en al menos algunos de los parámetros del modelo armónico para guiar la optimización hasta regiones biológicamente realistas.

5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, teniendo el modelo armónico una cola pesada para permitir la naturaleza ruidosa de las mediciones.

6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende además determinar una transformación de estabilización de la varianza de las mediciones antes de estimar la periodicidad con base en las mediciones transformadas.

7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la determinación del tiempo preferido para administrar la terapia comprende la comparación de las mediciones del sujeto con una base de datos de mediciones del biomarcador obtenidas de otros sujetos.

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde las mediciones son para dos o más biomarcadores diferentes que están fluctuando en el individuo, y la determinación del tiempo preferido para administrar la terapia se basa en los dos o más conjuntos de mediciones.

9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el biomarcador es un marcador inflamatorio de fase aguda.

10. El método de la reivindicación 1 que comprende además:

i) recibir las mediciones del biomarcador del dispositivo de medición antes de la etapa a); y

ii) transmitir el tiempo preferido al dispositivo de medición después de la etapa b).

11. El método de la reivindicación 10, que comprende además transmitir la periodicidad estimada de la fluctuación al dispositivo de medición.

12. Un producto de un programa de ordenador que comprende un medio de codificación del programa de ordenador para provocar que un ordenador implemente un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

13. Un sistema de computo para analizar un biomarcador que fluctúa en un sujeto con la enfermedad para determinar un tiempo preferido en el futuro para administrar una terapia para tratar dicha enfermedad, comprendiendo el sistema un dispositivo de cómputo que puede ser operado para:

a) la estimación de una periodicidad de la fluctuación del biomarcador con base en las mediciones del biomarcador en muestras del sujeto mediante la obtención de una curva de mejor ajuste para las mediciones de acuerdo con un modelo de la fluctuación del biomarcador, en donde el modelo es una técnica de regresión periódica; y

b) determinar a partir de la periodicidad estimada de la fluctuación un tiempo preferido en el futuro para administrar una terapia para tratar la enfermedad en el sujeto mediante la proyección de la curva obtenida de mejor ajuste en el futuro

14. El sistema de cómputo de la reivindicación 13 que comprende además un dispositivo de medición para analizar un biomarcador que fluctúa en un sujeto con una enfermedad, siendo el dispositivo de medición operable para:

i) enviar mediciones del biomarcador al dispositivo de computo del sistema de ordenador a través de una red de comunicaciones; y

ii) recibir el tiempo preferido del dispositivo de cómputo.

15. El sistema de ordenador de la reivindicación 14, en donde el dispositivo de medición puede ser operado además para recibir la periodicidad estimada de la fluctuación.

16. El sistema de ordenador de la reivindicación 13 o la reivindicación 14 en donde el sistema de ordenador es un dispositivo portátil.

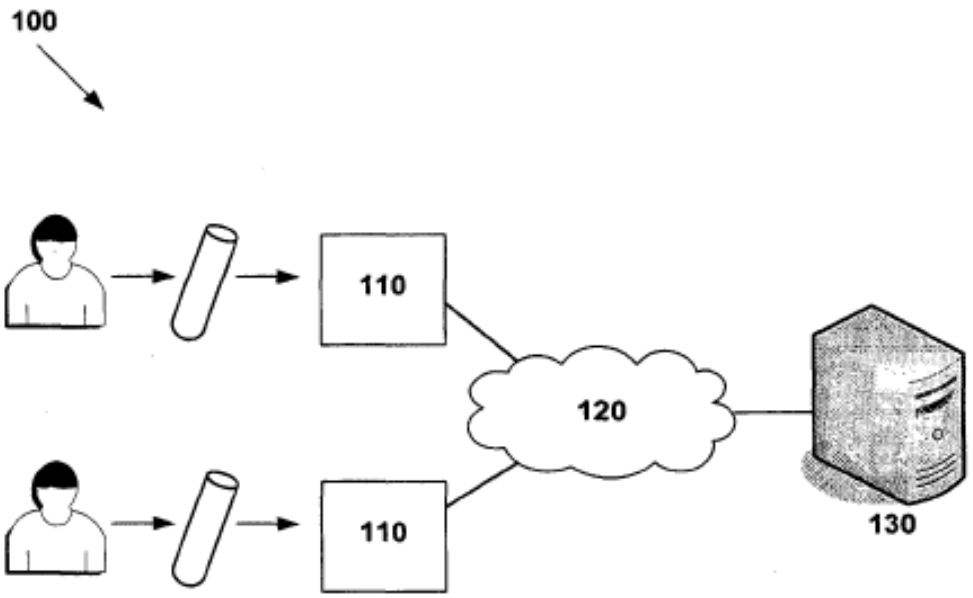


Figura 1

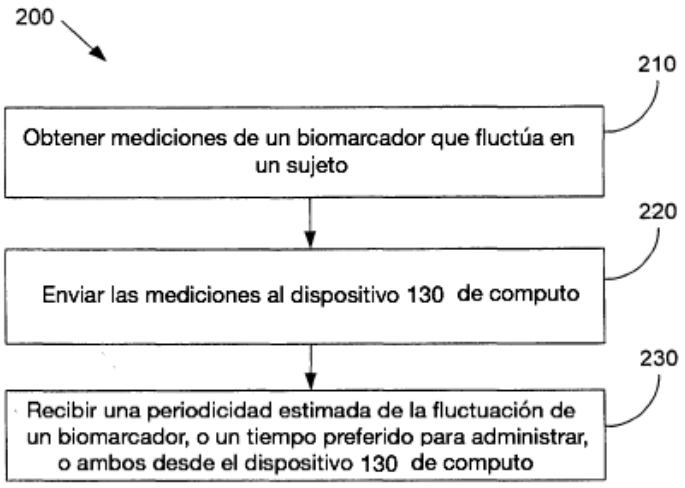

200
210
Obtener mediciones de un biomarcador que fluctúa en un sujeto
220
Enviar las mediciones al dispositivo 130 de computo
230
Recibir una periodicidad estimada de la fluctuación de un biomarcador, o un tiempo preferido para administrar, o ambos desde el dispositivo 130 de computo

Figura 2

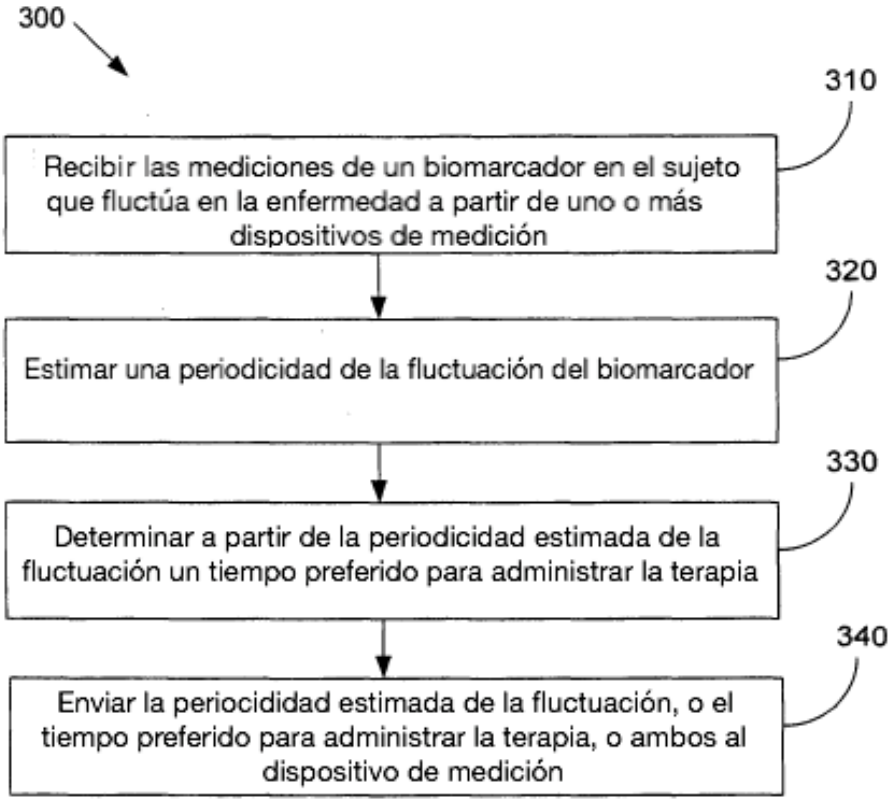

300
310
Recibir las mediciones de un biomarcador en el sujeto que fluctúa en la enfermedad a partir de uno o más dispositivos de medición
320
Estimar una periodicidad de la fluctuación del biomarcador
330
Determinar a partir de la periodicidad estimada de la fluctuación un tiempo preferido para administrar la terapia
340
Enviar la periocididad estimada de la fluctuación, o el tiempo preferido para administrar la terapia, o ambos al dispositivo de medición

Figura 3

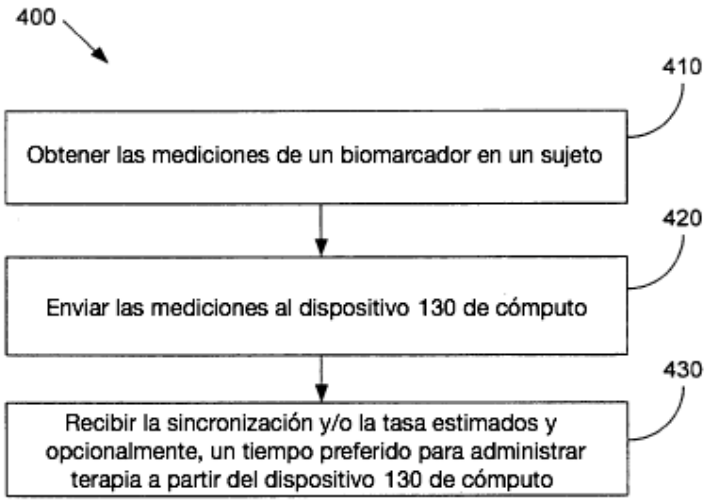

400
410
Obtener las mediciones de un biomarcador en un sujeto
420
Enviar las mediciones al dispositivo 130 de cómputo
430
Recibir la sincronización y/o la tasa estimados y opcionalmente, un tiempo preferido para administrar terapia a partir del dispositivo 130 de cómputo

Figura 4

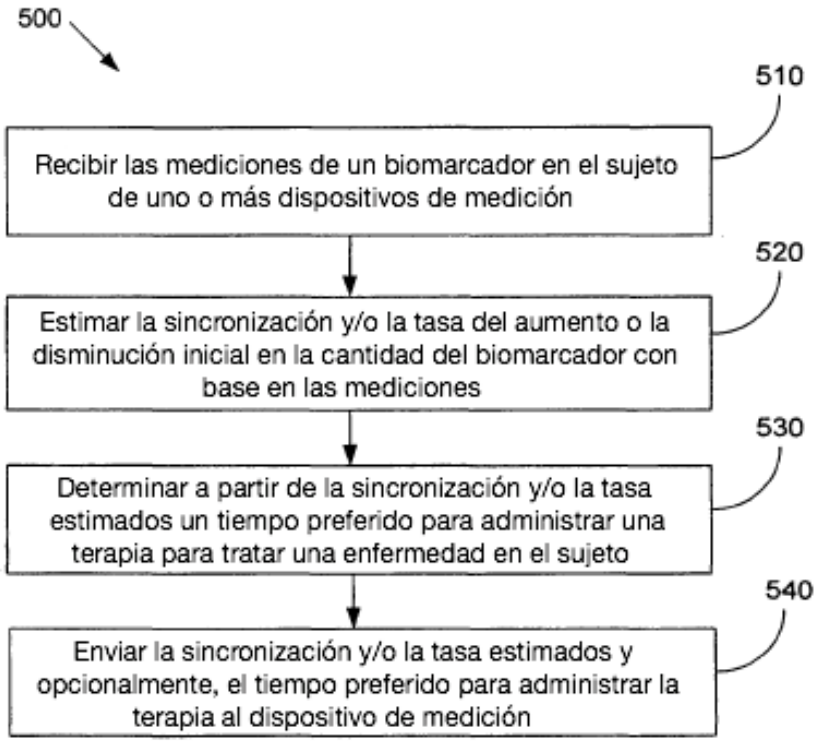

500
510
Recibir las mediciones de un biomarcador en el sujeto de uno o más dispositivos de medición
520
Estimar la sincronización y/o la tasa del aumento o la disminución inicial en la cantidad del biomarcador con base en las mediciones
530
Determinar a partir de la sincronización y/o la tasa estimados un tiempo preferido para administrar una terapia para tratar una enfermedad en el sujeto
540
Enviar la sincronización y/o la tasa estimados y opcionalmente, el tiempo preferido para administrar la terapia al dispositivo de medición

Figura 5

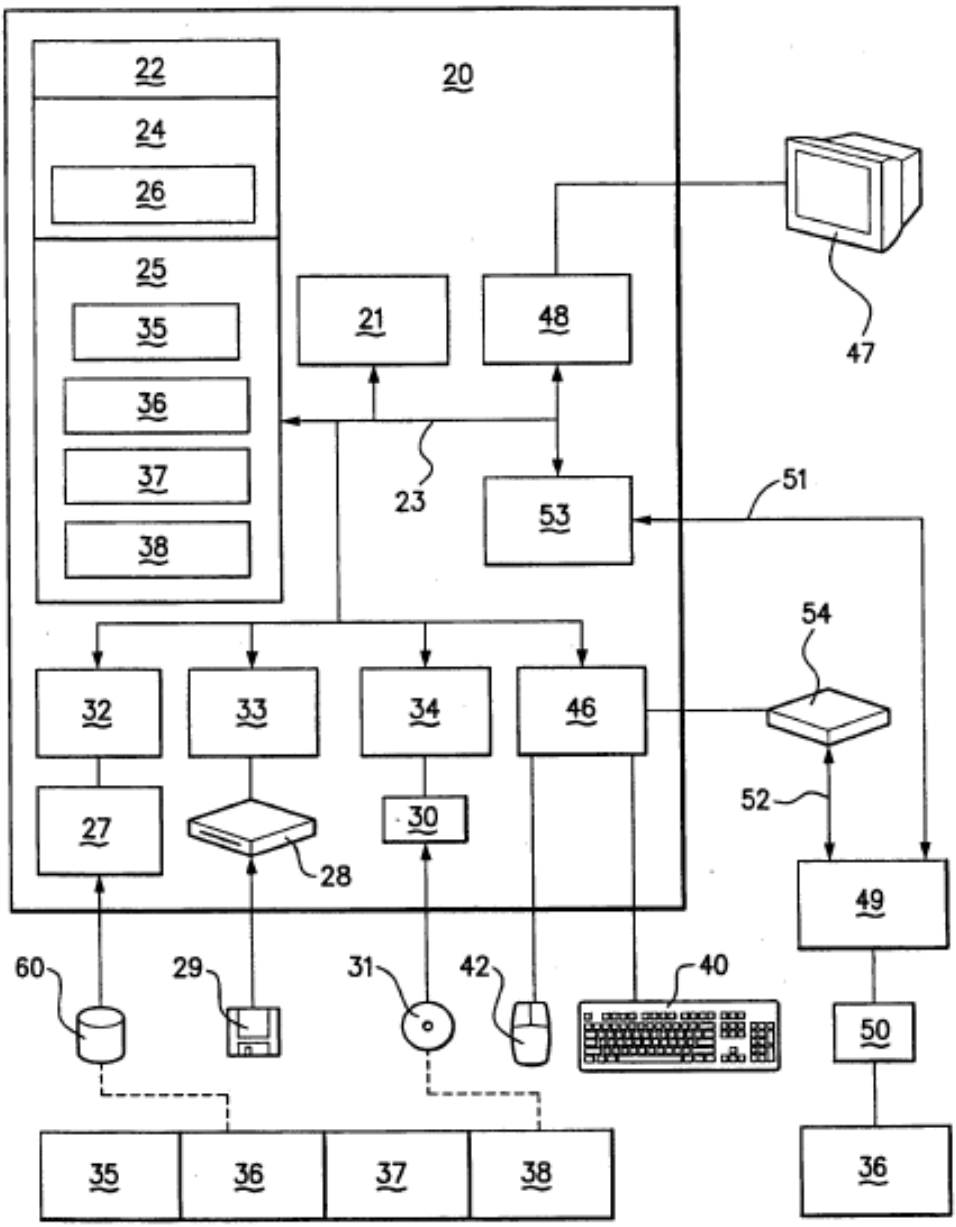

22
20
24
26
25
35
36
37
38
21
48
47
23
53
51
54
32
33
34
46
27
30
28
52
49
60
29
31
42
40
50
35
36
37
38
36

Figura 6

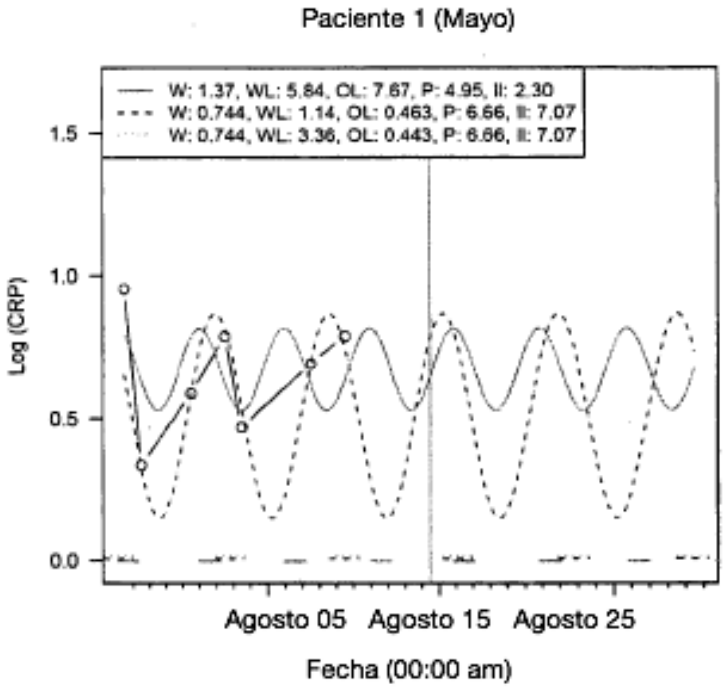


Figura 7

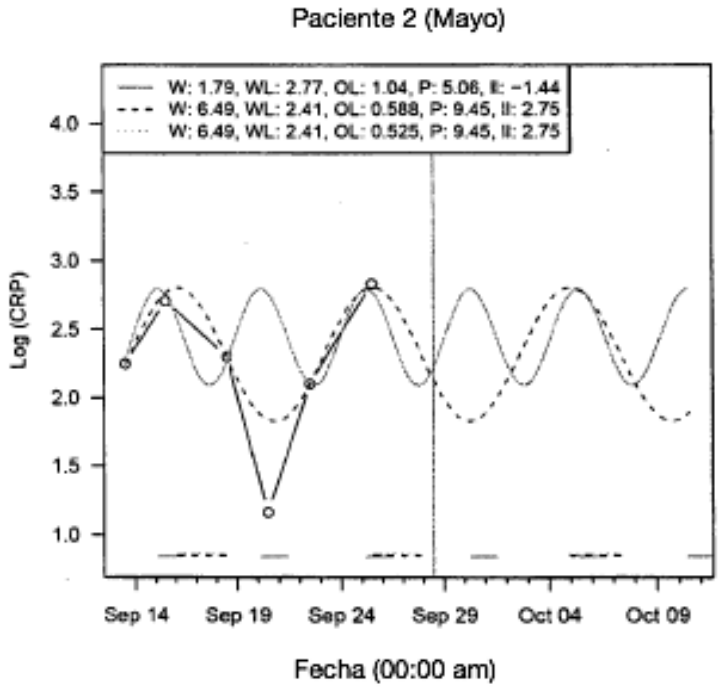


Figura 8

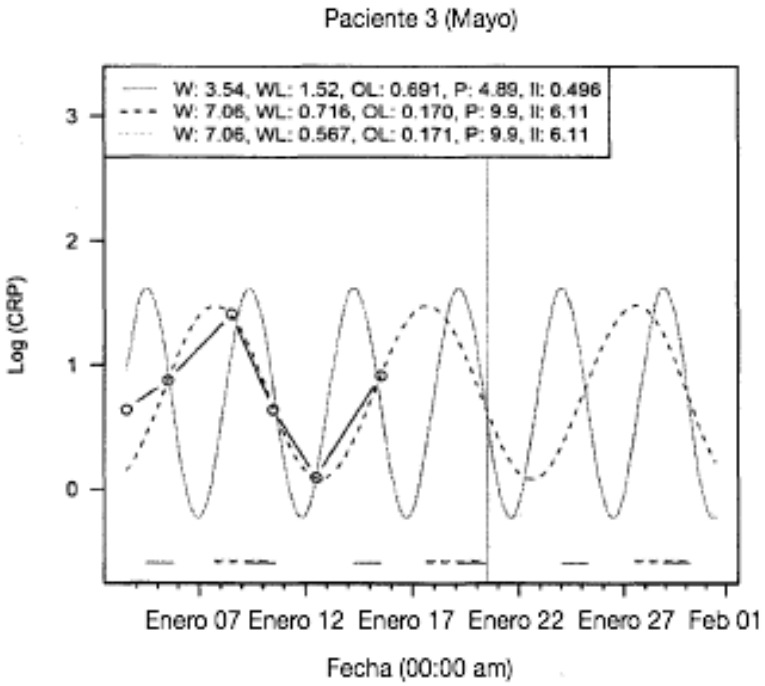


Figura 9

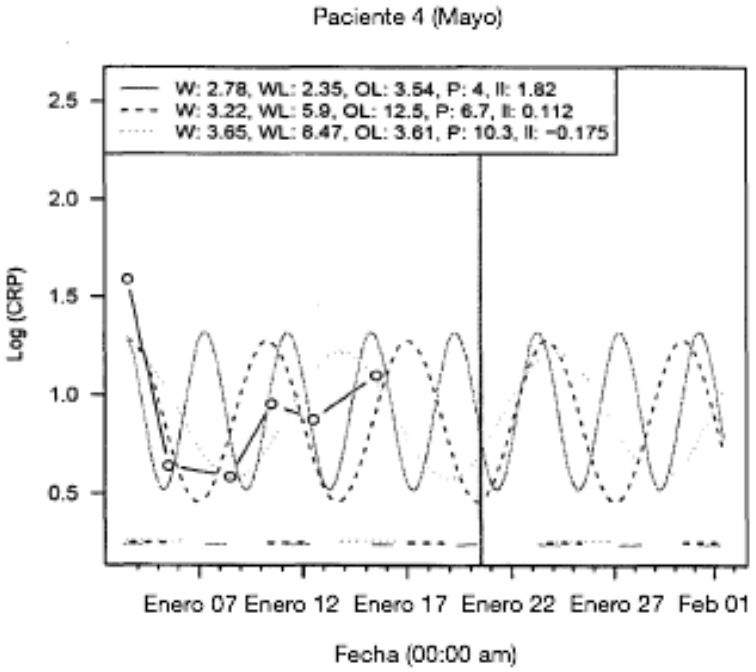


Figura 10

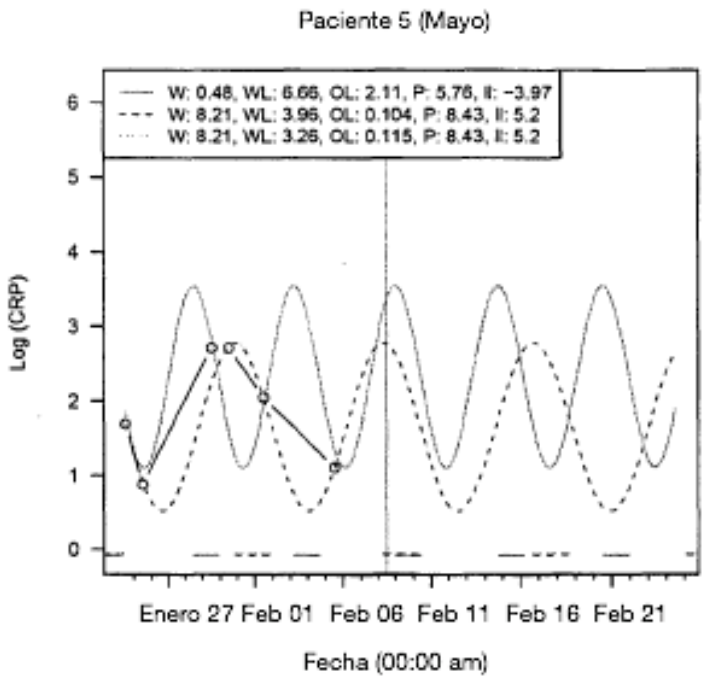


Figura 11

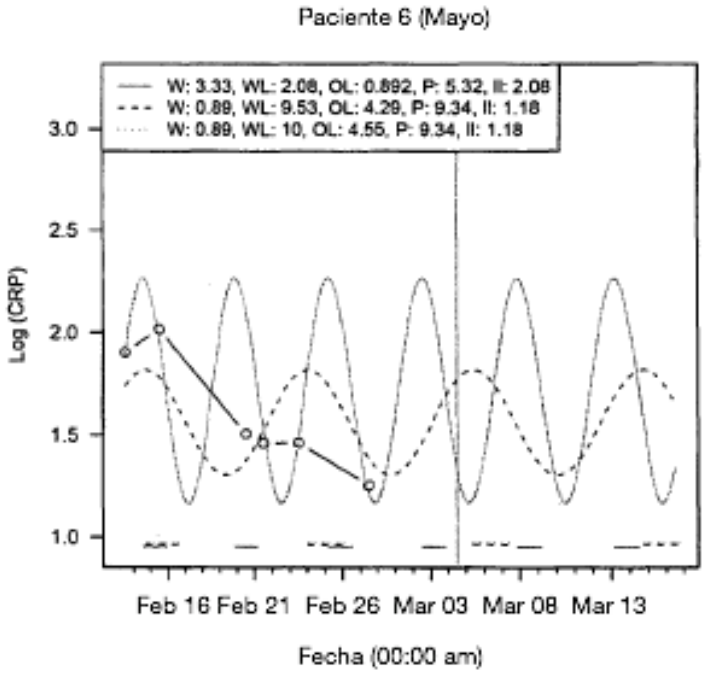


Figura 12

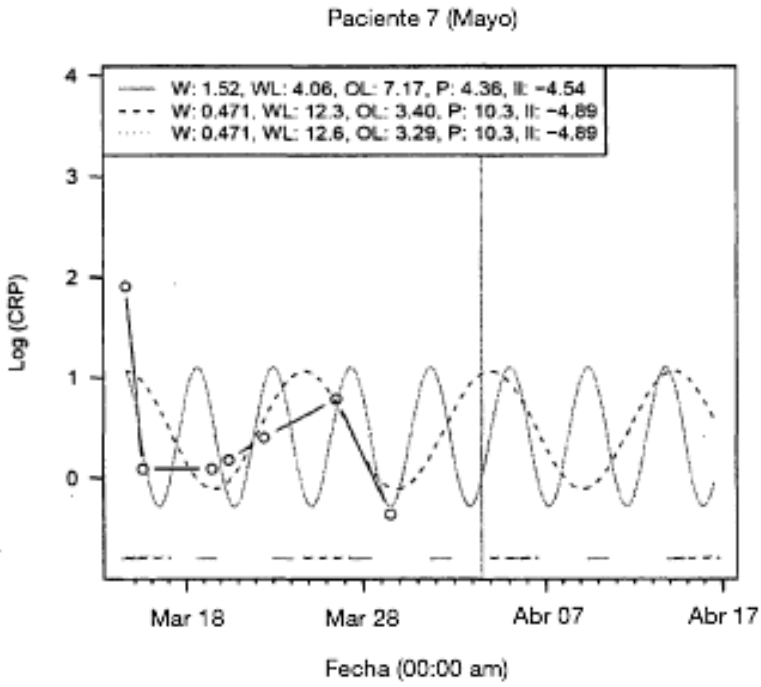


Figura 13

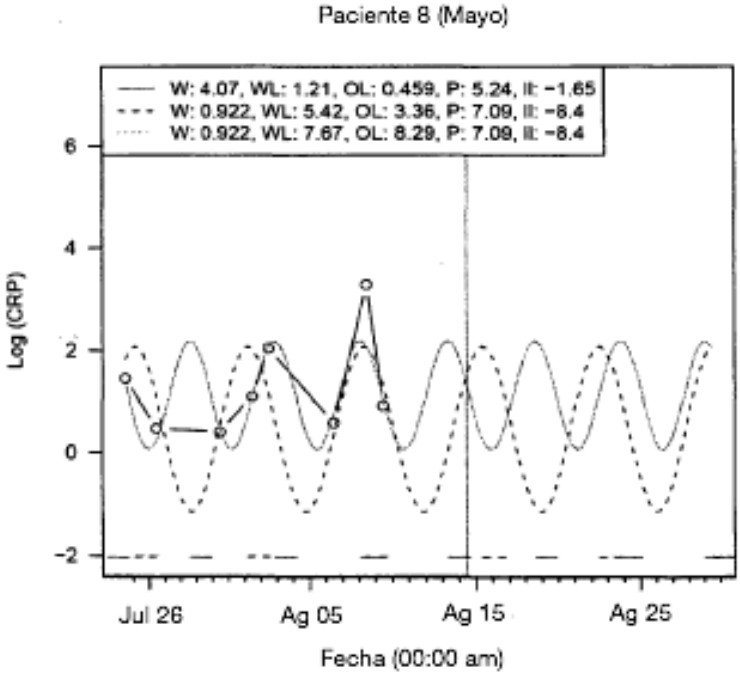


Figura 14

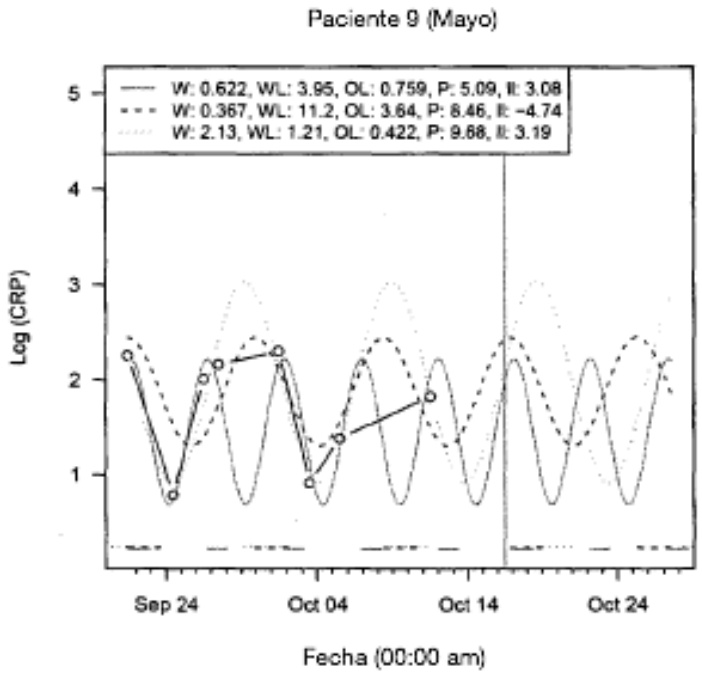


Figura 15

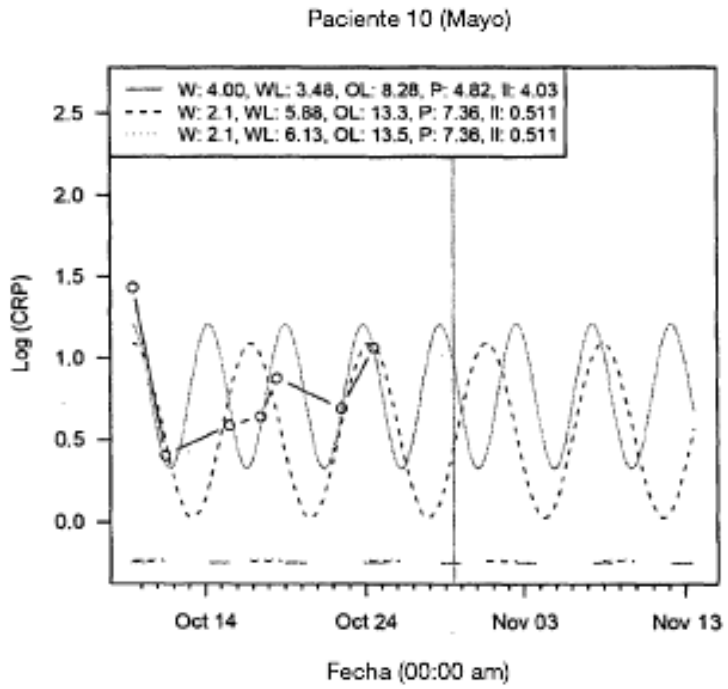


Figura 16

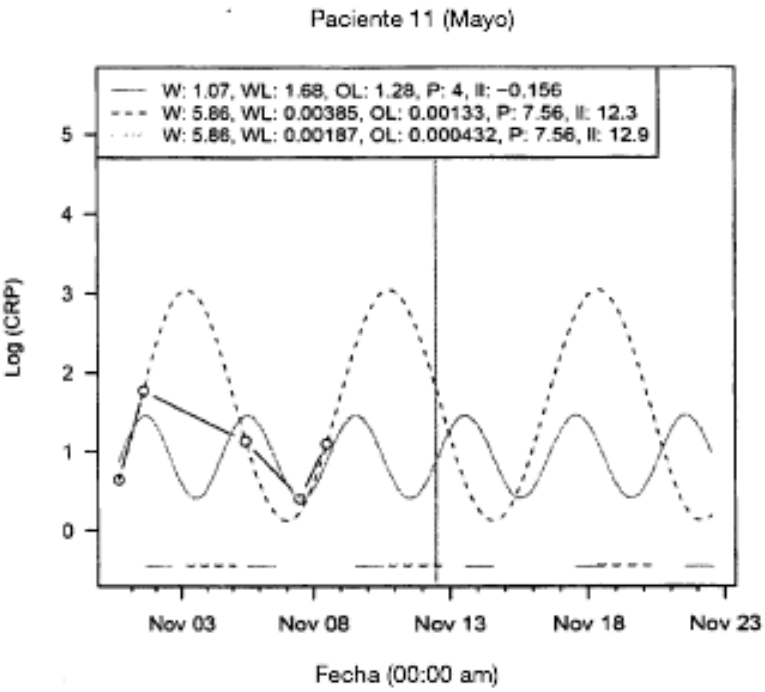


Figura 17

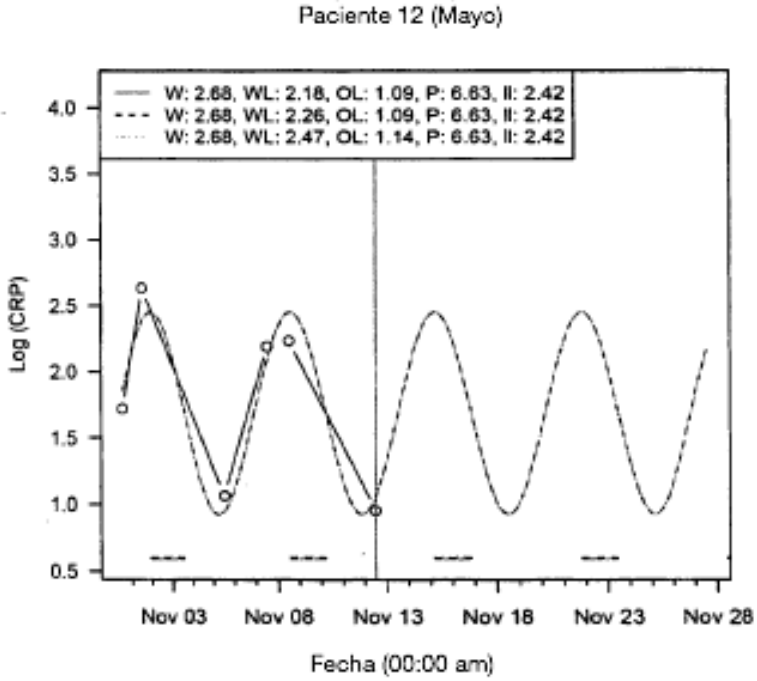


Figura 18

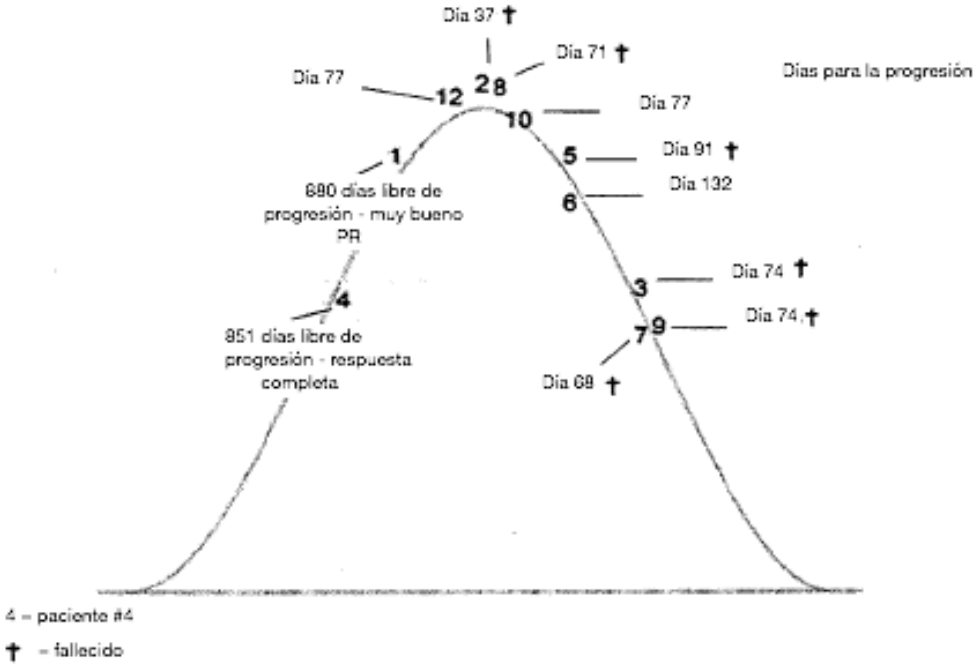
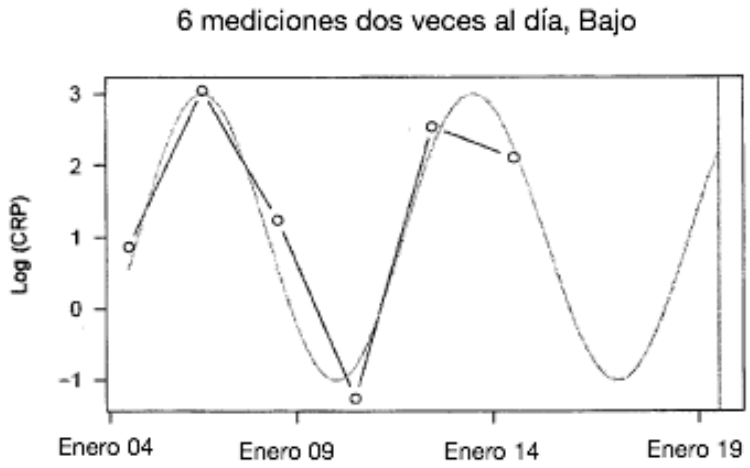

Día 37 †
Día 71 †
Días para la progresión
Día 77
12
28
Día 77
10
1
5
Día 91 †
690 días libre de progresión - muy bueno PR
Día 132
6
Día 74 †
3
4
Día 74 †
9
7
851 días libre de progresión - respuesta completa
Día 68 †
4 = paciente #4
† = fallecido

Figura 19


6 mediciones dos veces al día, Bajo
Log (CRP)
3
2
1
0
-1
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19

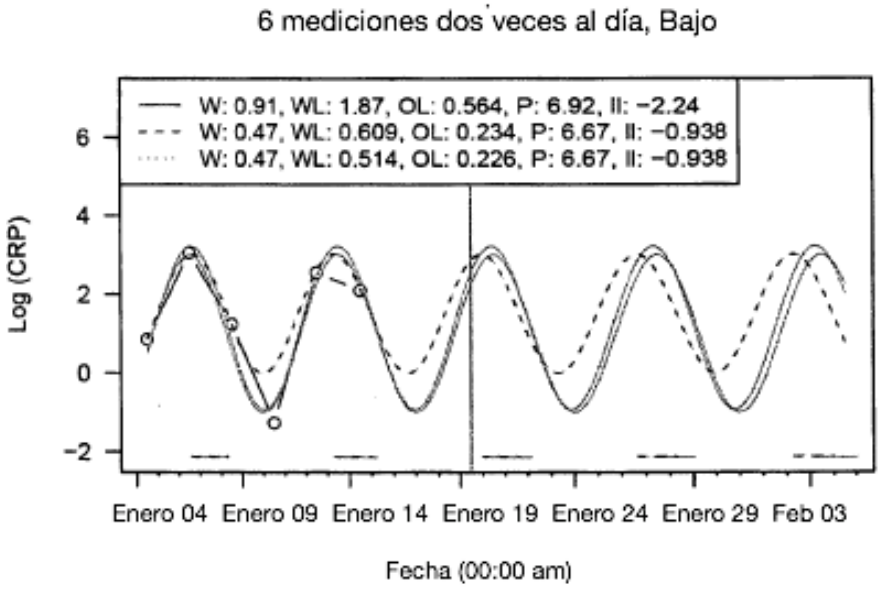

6 mediciones dos veces al día, Bajo
W: 0.91, WL: 1.87, OL: 0.564, P: 6.92, II: −2.24
W: 0.47, WL: 0.609, OL: 0.234, P: 6.67, II: −0.938
W: 0.47, WL: 0.514, OL: 0.226, P: 6.67, II: −0.938
Log (CRP)
6
4
2
0
−2
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
Enero 24
Enero 29
Feb 03
Fecha (00:00 am)

Figura 20

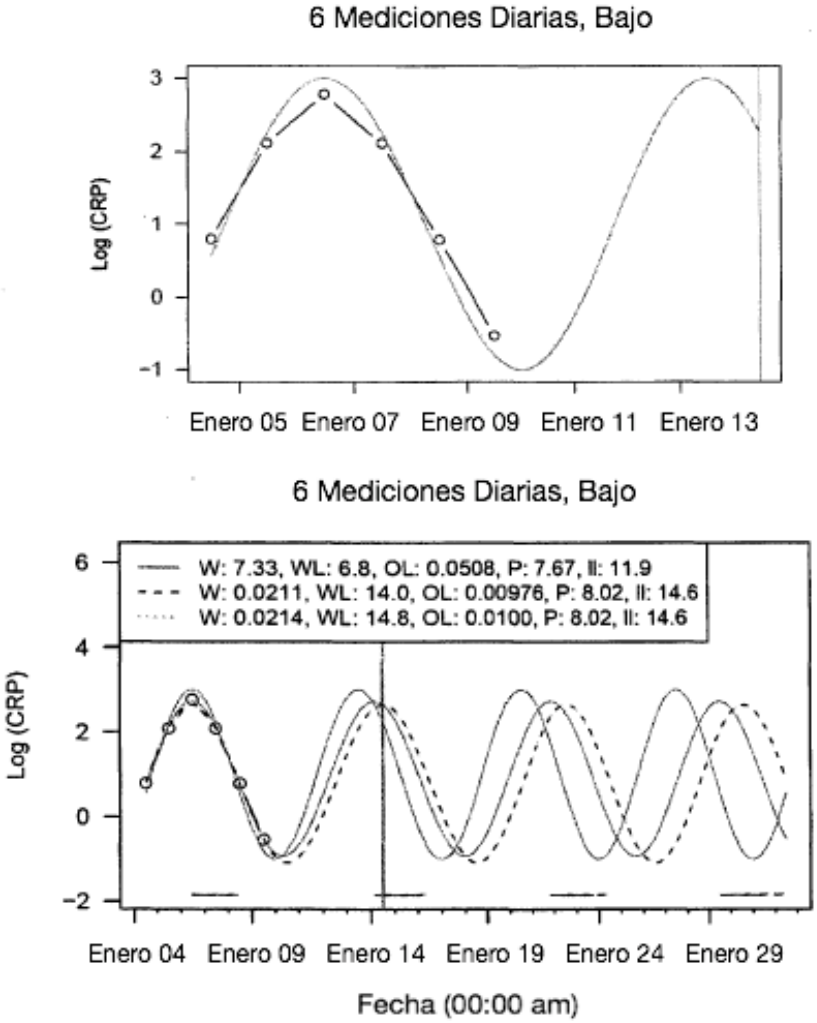

6 Mediciones Diarias, Bajo
Log (CRP)
3
2
1
0
-1
Enero 05
Enero 07
Enero 09
Enero 11
Enero 13
6 Mediciones Diarias, Bajo
W: 7.33, WL: 6.8, OL: 0.0508, P: 7.67, ll: 11.9
W: 0.0211, WL: 14.0, OL: 0.00976, P: 8.02, ll: 14.6
W: 0.0214, WL: 14.8, OL: 0.0100, P: 8.02, ll: 14.6
Log (CRP)
6
4
2
0
-2
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
Enero 24
Enero 29
Fecha (00:00 am)

Figura 21

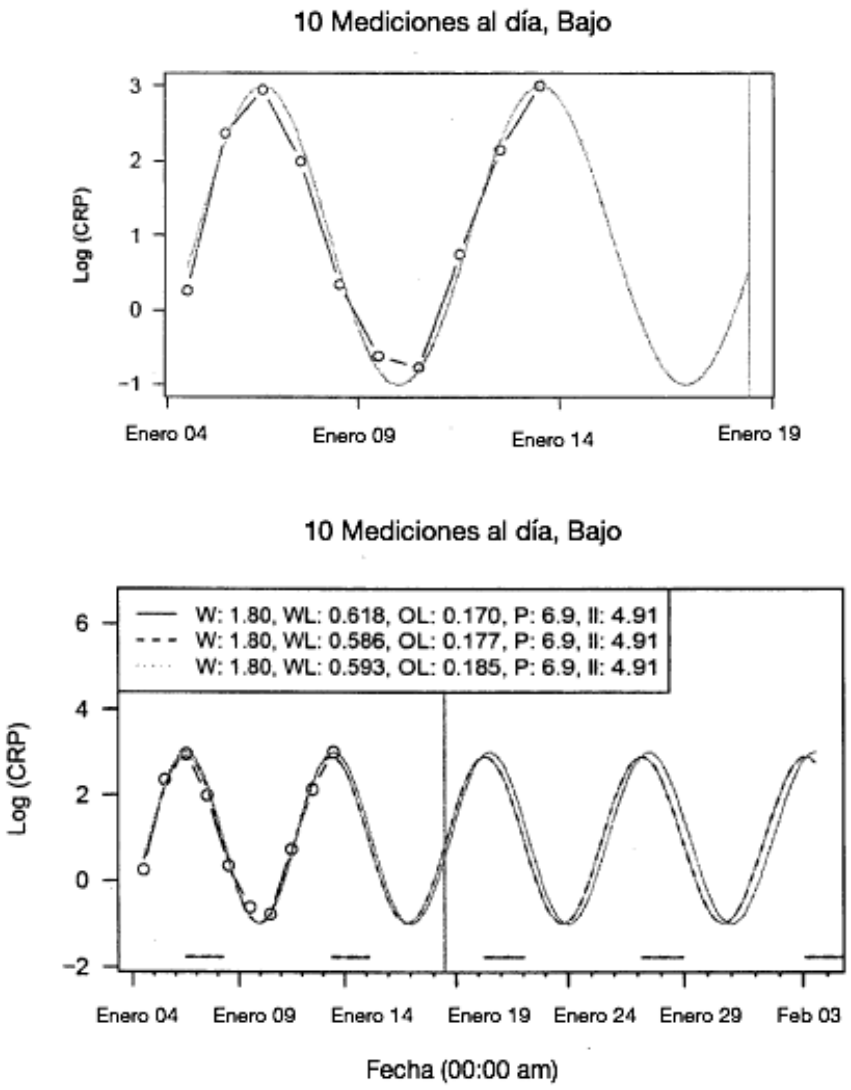

10 Mediciones al día, Bajo
Log (CRP)
3
2
1
0
-1
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
10 Mediciones al día, Bajo
W: 1.80, WL: 0.618, OL: 0.170, P: 6.9, II: 4.91
W: 1.80, WL: 0.586, OL: 0.177, P: 6.9, II: 4.91
W: 1.80, WL: 0.593, OL: 0.185, P: 6.9, II: 4.91
Log (CRP)
6
4
2
0
-2
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
Enero 24
Enero 29
Feb 03
Fecha (00:00 am)

Figura 22

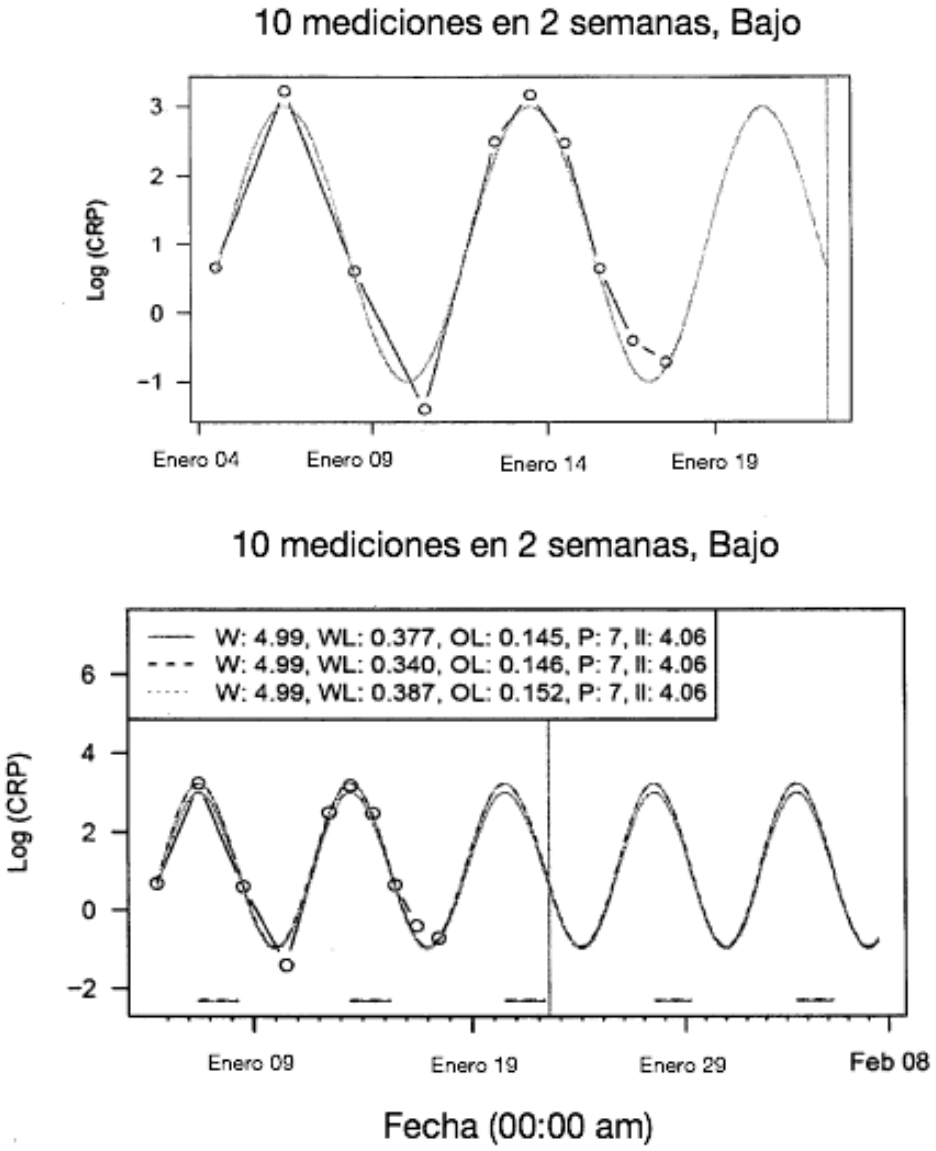
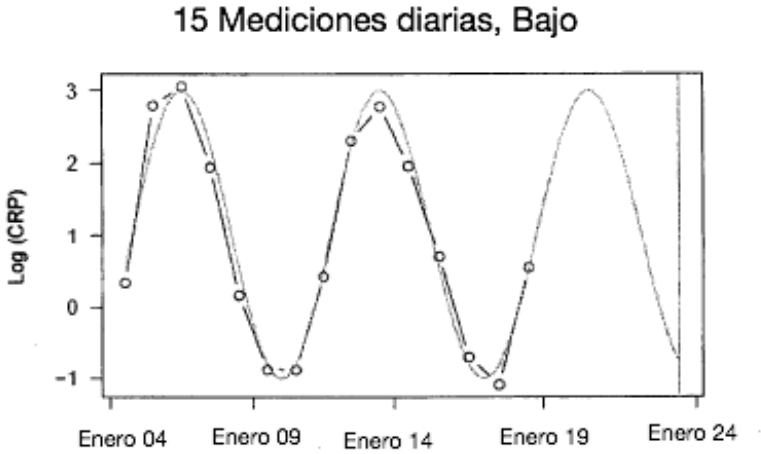

10 mediciones en 2 semanas, Bajo
Log (CRP)
3
2
1
0
−1
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
10 mediciones en 2 semanas, Bajo
W: 4.99, WL: 0.377, OL: 0.145, P: 7, II: 4.06
W: 4.99, WL: 0.340, OL: 0.146, P: 7, II: 4.06
W: 4.99, WL: 0.387, OL: 0.152, P: 7, II: 4.06
Log (CRP)
6
4
2
0
−2
Enero 09
Enero 19
Enero 29
Feb 08
Fecha (00:00 am)

Figura 23


15 Mediciones diarias, Bajo
Log (CRP)
3
2
1
0
-1
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
Enero 24

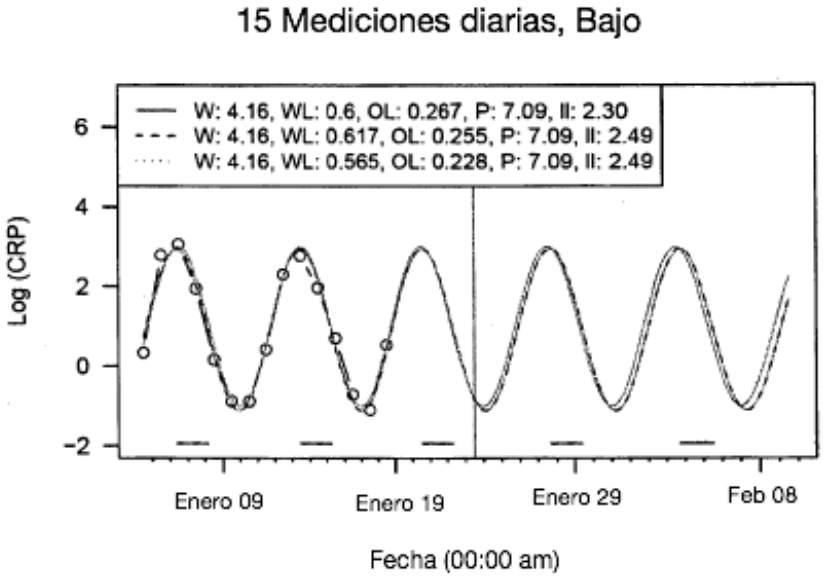

15 Mediciones diarias, Bajo
W: 4.16, WL: 0.6, OL: 0.267, P: 7.09, II: 2.30
W: 4.16, WL: 0.617, OL: 0.255, P: 7.09, II: 2.49
W: 4.16, WL: 0.565, OL: 0.228, P: 7.09, II: 2.49
Log (CRP)
6
4
2
0
-2
Enero 09
Enero 19
Enero 29
Feb 08
Fecha (00:00 am)

Figura 24

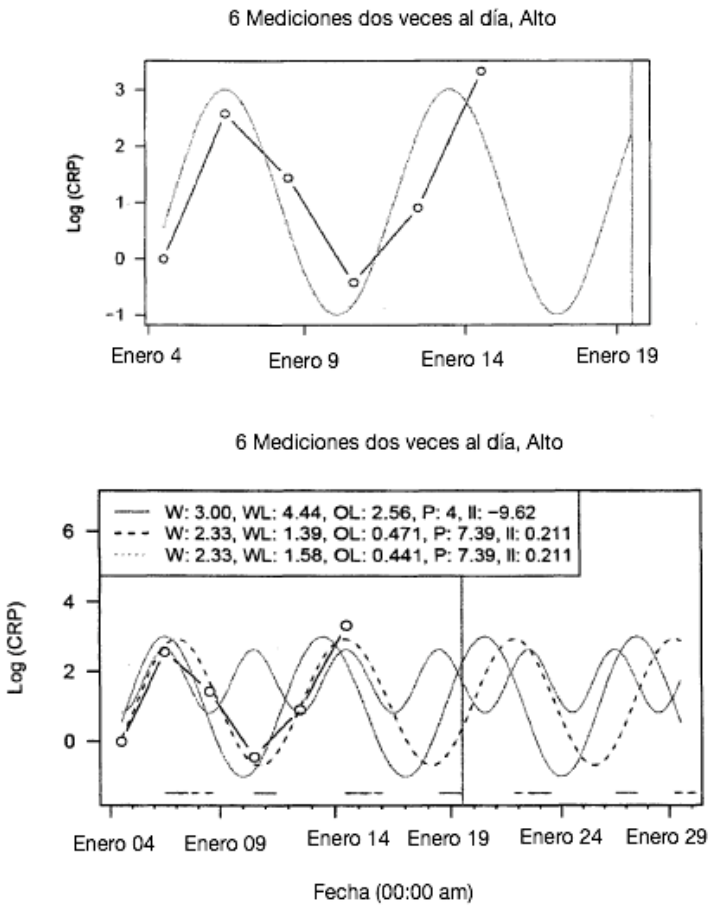
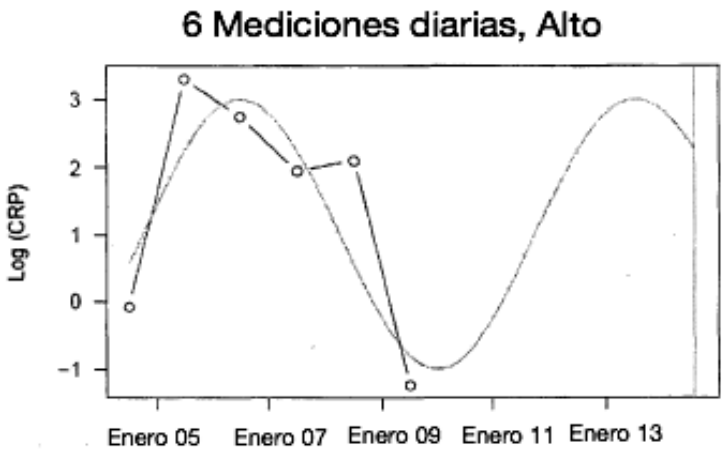

6 Mediciones dos veces al día, Alto
Log (CRP)
3
2
1
0
-1
Enero 4
Enero 9
Enero 14
Enero 19
6 Mediciones dos veces al día, Alto
W: 3.00, WL: 4.44, OL: 2.56, P: 4, ll: −9.62
W: 2.33, WL: 1.39, OL: 0.471, P: 7.39, ll: 0.211
W: 2.33, WL: 1.58, OL: 0.441, P: 7.39, ll: 0.211
Log (CRP)
6
4
2
0
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
Enero 24
Enero 29
Fecha (00:00 am)

Figura 25


6 Mediciones diarias, Alto
Log (CRP)
3
2
1
0
−1
Enero 05
Enero 07
Enero 09
Enero 11
Enero 13

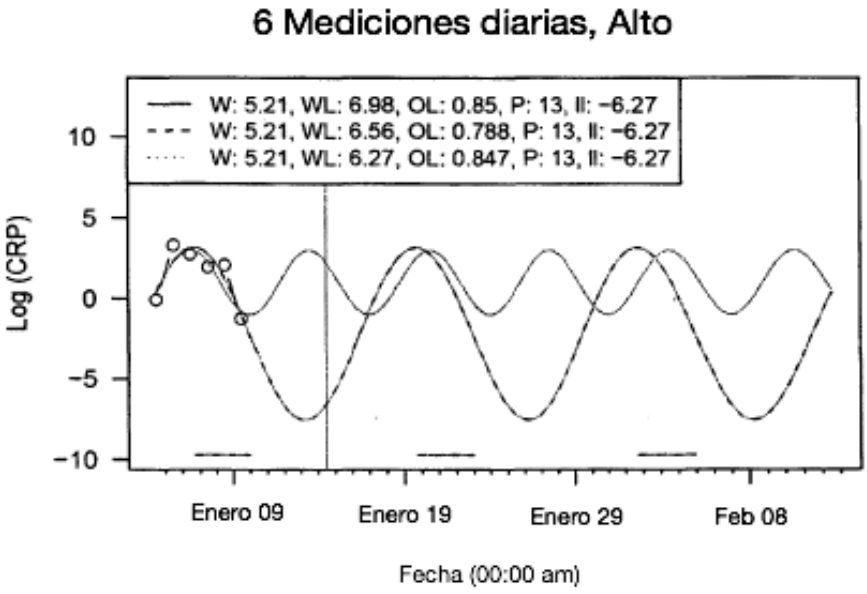
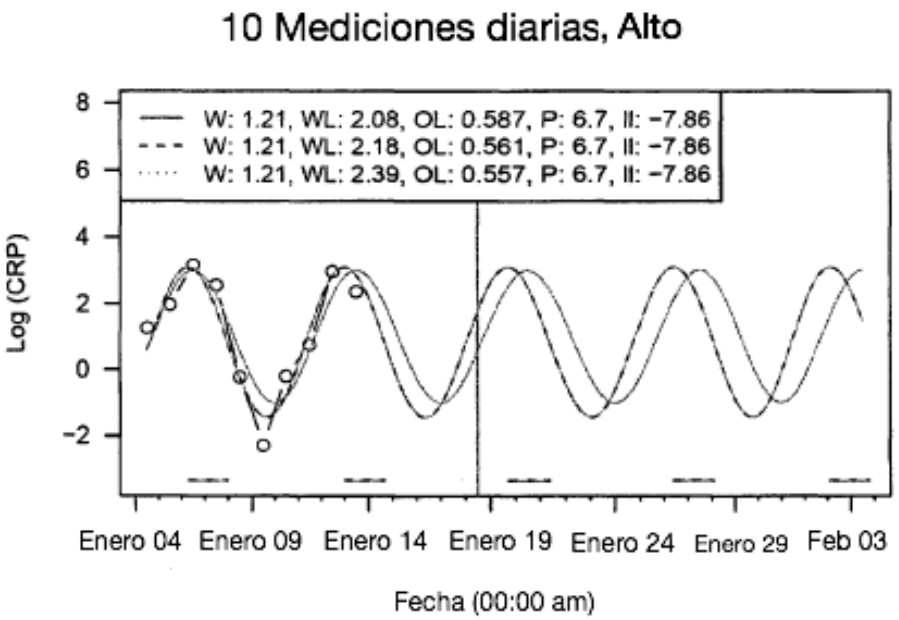

6 Mediciones diarias, Alto
W: 5.21, WL: 6.98, OL: 0.85, P: 13, ll: −6.27
W: 5.21, WL: 6.56, OL: 0.788, P: 13, ll: −6.27
W: 5.21, WL: 6.27, OL: 0.847, P: 13, ll: −6.27
Log (CRP)
10
5
0
−5
−10
Enero 09
Enero 19
Enero 29
Feb 08
Fecha (00:00 am)

Figura 26


10 Mediciones diarias, Alto
W: 1.21, WL: 2.08, OL: 0.587, P: 6.7, ll: −7.86
W: 1.21, WL: 2.18, OL: 0.561, P: 6.7, ll: −7.86
W: 1.21, WL: 2.39, OL: 0.557, P: 6.7, ll: −7.86
Log (CRP)
8
6
4
2
0
−2
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
Enero 24
Enero 29
Feb 03
Fecha (00:00 am)

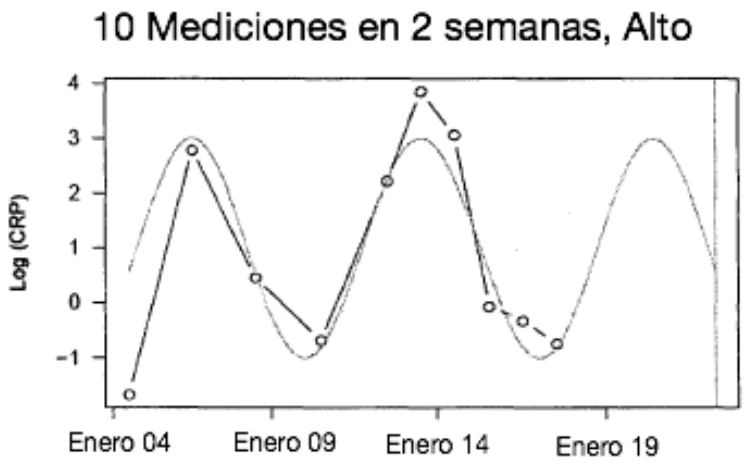
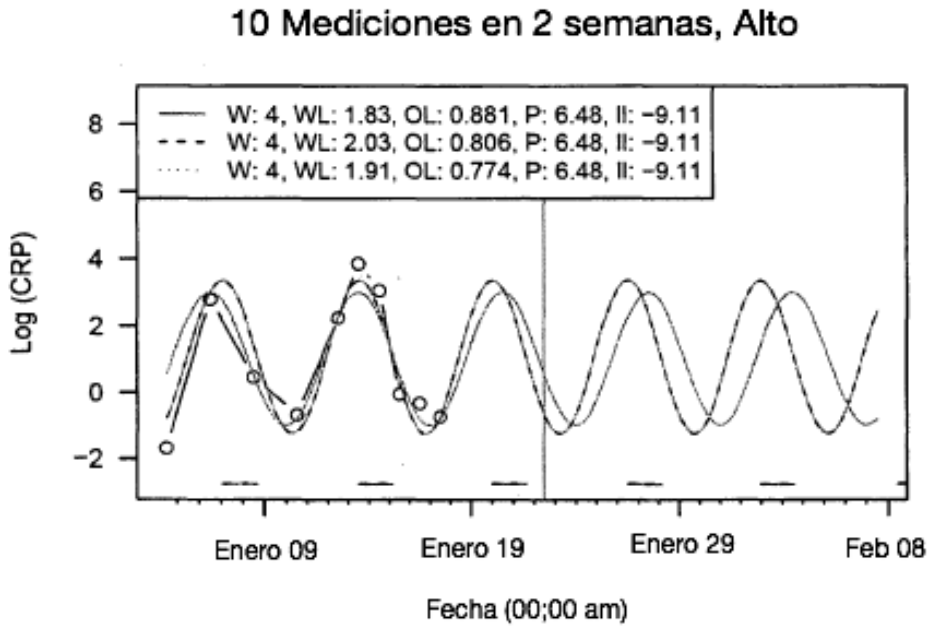

10 Mediciones en 2 semanas, Alto
Log (CRP)
4
3
2
1
0
−1
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19

Figura 27


10 Mediciones en 2 semanas, Alto
W: 4, WL: 1.83, OL: 0.881, P: 6.48, ll: −9.11
W: 4, WL: 2.03, OL: 0.806, P: 6.48, ll: −9.11
W: 4, WL: 1.91, OL: 0.774, P: 6.48, ll: −9.11
Log (CRP)
8
6
4
2
0
−2
Enero 09
Enero 19
Enero 29
Feb 08
Fecha (00;00 am)

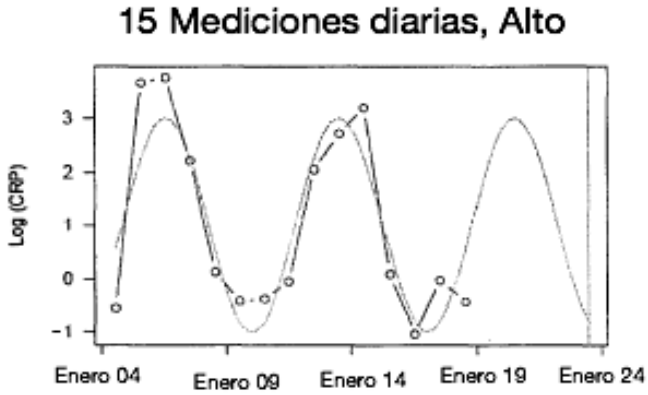

15 Mediciones diarias, Alto
Log (CRP)
3
2
1
0
−1
Enero 04
Enero 09
Enero 14
Enero 19
Enero 24

Figura 28

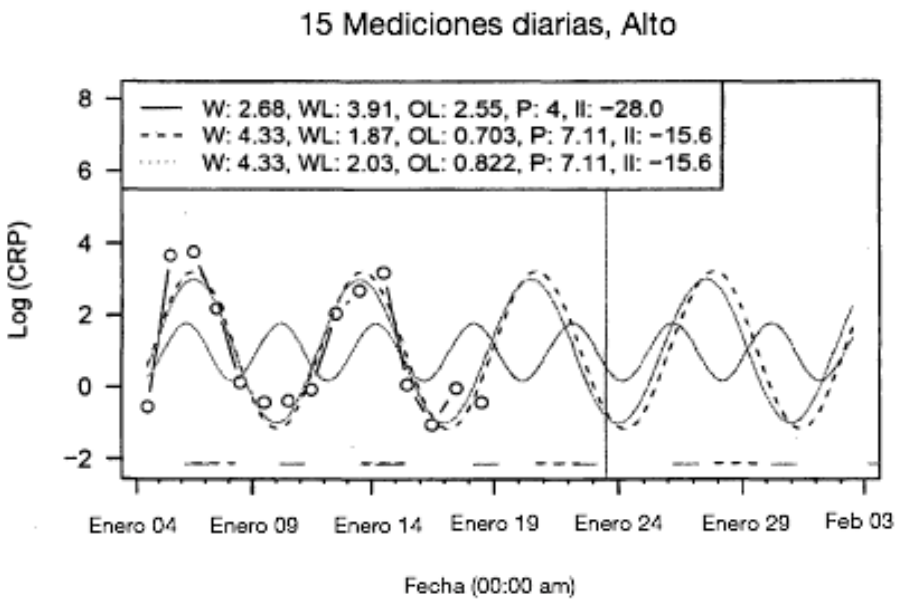


Figura 29

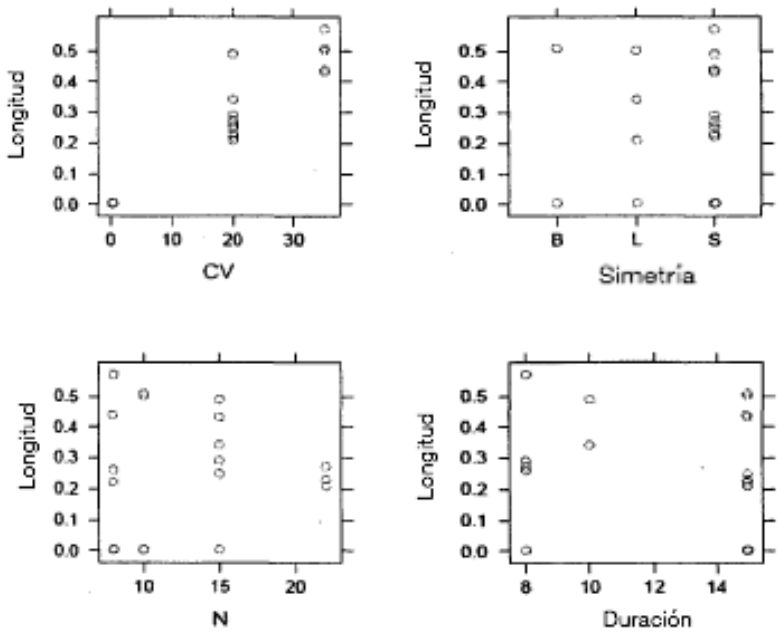


Figura 30

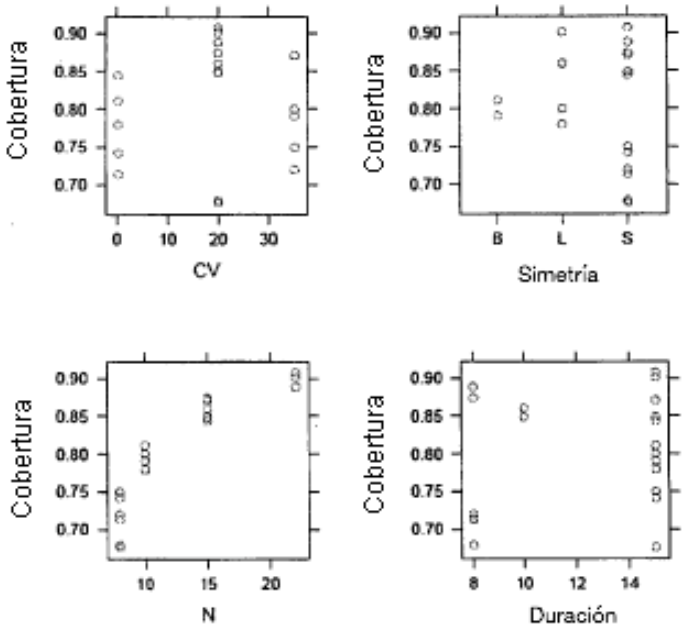

Cobertura
0.90
0.85
0.80
0.75
0.70
0
10
20
30
CV
Cobertura
0.90
0.85
0.80
0.75
0.70
B
L
S
Simetría
Cobertura
0.90
0.85
0.80
0.75
0.70
10
15
20
N
Cobertura
0.90
0.85
0.80
0.75
0.70
8
10
12
14
Duración

Figura 31