

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 264**

51 Int. Cl.:

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 37/04 (2006.01)

A61K 39/02 (2006.01)

A61K 39/12 (2006.01)

A61K 39/002 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.03.2012 PCT/BR2012/000072**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.09.2012 WO12122618**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.03.2012 E 12757249 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 2687227**

54 Título: **Composición inmunogénica para la modulación del sistema inmunológico y uso de la misma, procedimiento para el tratamiento y prevención de enfermedades, procedimiento para inducir regeneración celular y procedimiento para restablecer la respuesta inmunitaria**

30 Prioridad:

18.03.2011 BR PI1100857

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

08.02.2019

73 Titular/es:

**NOWILL, ALEXANDRE EDUARDO (100.0%)
Artur De Sousa Marques, 363 Vila Tramontina
São Paulo-SP 05691-000, BR**

72 Inventor/es:

NOWILL, ALEXANDRE EDUARDO

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 699 264 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

Composición inmunogénica para la modulación del sistema inmunológico y uso de la misma, procedimiento para el tratamiento y prevención de enfermedades, procedimiento para inducir regeneración celular y procedimiento para restablecer la respuesta inmunitaria

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones inmunogénicas para la modulación del sistema inmunológico compuestas por una cantidad terapéuticamente eficaz de dos o más agentes antigénicos inmunoactivos que presentan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS) y/o patrones moleculares asociados a peligro (DAMPS) y un o más vehículo, excipiente, diluyente o disolvente fisiológicamente aceptables.

Antecedentes de la invención

Sobre el descubrimiento de los antibióticos y otros medicamentos

Desde el descubrimiento pionero de antibióticos en la segunda mitad del siglo XX, comenzó el desarrollo a gran escala de nuevos antibióticos, antibióticos semi-sintéticos y nuevos quimioterapéuticos con actividad antimicrobiana, contra la mayoría de las bacterias intracelulares y extracelulares. Estos avances han cambiado la historia de la medicina, permitiendo alcanzar un amplio espectro de curación, para la gran mayoría de las enfermedades infecciosas bacterianas, que sacudían la humanidad.

Así, el descubrimiento de los antibióticos fue un importante hito, un punto de inflexión, pues las infecciones pudieron ser combatidas y curadas, de manera específica y con una relación de causa y efecto nítida y mensurable, una vez ya establecidas. Este descubrimiento expandió en sobremanera la capacidad de cura de la medicina, con un enorme impacto positivo en la salud del ser humano y en su esperanza de vida. El descubrimiento de los antibióticos en la evolución y el tratamiento de las enfermedades, influyó profundamente en la investigación y el pensamiento de los investigadores, a partir del éxito alcanzado por este modelo experimental (Reeves G, Todd I. Lecture notes on immunology. 2 ed: Blackwell Scientific Publications, 1991; Neto VA, Nicodemo AC, Lopes HV. Antibióticos na prática médica. 6 ed: Sarvier, 2007; Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica. 5 ed: Mosby, 2006; Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiología 5 Ed: Atheneu Editora, 2008).

Al de los antibióticos le siguió el desarrollo y el uso de medicamentos antimicóticos, antiparasitarios y antivirales. Se desarrollaron también fármacos antineoplásicos, citostáticos y citotóxicos contra tumores malignos, los fármacos antiinflamatorios, antialérgicos e inmunosupresores (antilinfocitos, antileucocitos, neutralizantes del sistema inmunológico) de naturaleza hormonal y no hormonal, con una amplia gama de aplicaciones, como en enfermedades infecciosas, dolencias inflamatorias de cualquier origen, enfermedades autoinmunes, genéticas, en enfermedades alérgicas, en enfermedades vasculares, en traumas, en enfermedades neoplásicas, en enfermedades hormonales, en enfermedades degenerativas, entre otras.

Así, los nuevos medicamentos trajeron una enorme capacidad de intervención para el área médica, con numerosos beneficios, con curaciones definitivas, parciales, con la prolongación de la vida en las enfermedades incurables, pero con una gran morbilidad, por efectos secundarios debido a su falta de especificidad en relación a la fisiopatología de las enfermedades tratadas.

Sobre la inmunidad innata

La inmunidad innata, además de impedir la entrada de microorganismos y prevenir su establecimiento, tiene otra función vital descubierta recientemente: la discriminación entre "propio" y no "propio" por reconocimiento de patrones y la capacidad relacionada de dar la alarma y la orden para iniciar o inhibir una respuesta inmunitaria Integrada contra un microorganismo invasor o para detener, reparar o inhibir una condición de destrucción o auto agresión al cuerpo, como por ejemplo, en traumas, enfermedades autoinmunes y enfermedades alérgicas, entre otros. Esta doble capacidad anteriormente era, erróneamente, atribuida exclusivamente a la inmunidad adaptativa. La inmunidad innata, por medio de receptores propios, reconoce los microorganismos patógenos invasores, o las células neoplásicas o autólogas o incluso alogénicas, o los trasplantes alogénicos o heterólogos, como no "propio", es decir, los identifica como no perteneciente al organismo. A partir de ese momento, da la señal de alarma y desencadena conjuntamente la respuesta inmunitaria innata y adaptativa capaces de eliminarlos o suprimir una respuesta perjudicial para el organismo humano o animal (Goldsby RA, Kindt TJ, Osborne B. Inmunología de kuby. 6 ed: ARTMED; 2008, 704 p; Janeway C, Travers P, Walport M, Slihomchik MJ. Immunobiology five. 5 ed: Garland Pub.; 2001. 732 p.; Voltarelli JC. Inmunología clínica ha pratica medica: atheneu editora; 2009; Janeway CA, Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. Annual review of immunology. 2002;20:197-216. Epub 2002/02/28; Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002;296 (5566) :301-5. Epub 2002/04/16; Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature*. 2007; 449 (7161) : 419-26. Epub 2007/09/28.; Beutler BA. TLRs and innate immunity. *Blood*. 2009; 113 (7) : 1399-407. Epub 2008/09/02; Moresco EM, LaVine D, Beutler B. Toll-like receptors. *Current biology* : CB. 2011 ; 21 (13) : R488-93. Epub 2011/07/12).

El reconocimiento (¿por defecto/estándar/patrón?) del "no propio" de un germen-invasivo, de una célula neoplásica o de una célula alterada o trasplantada lo realizan las células centinela, representadas por las células epiteliales, las células de la mucosa y las células del estroma, tales como pericitos, células dendríticas, macrófagos y fibroblastos, entre otras. Estas células, estratégicamente distribuidas por todo el cuerpo, tienen PRR (receptores de reconocimiento de patrón) y DRR (receptores de reconocimiento de peligro), que son receptores capaces respectivamente de reconocer a) moléculas de identificación estándar, características de una amplia gama de microorganismos, y b) determinados patrones de sustancias químicas y físicas inertes y alteraciones causadas por estrés metabólico, tales como liberación de radicales libres y cambios químicos en los tejidos, causadas por radiaciones ionizantes o por sustancias químicas, entre otros.

Los PRR no discriminan un microorganismo específico individual, sino la presencia de microorganismos, distintos del organismo humano. Cada receptor PRR puede unirse a varios patógenos diferentes, reconociendo como PAMP (patrones moleculares asociados a patógenos) carbohidratos, lípidos, péptidos y ácidos nucleicos provenientes de bacterias, virus, hongos o parásitos que no son encontradas en el cuerpo humano o animal.

Los DRR discriminan que hay daños en los tejidos, una situación de peligro provocada por los propios agentes no vivos o inertes. Los DRR identifican DAMP (patrones moleculares asociados a peligro), patrones asociados a situaciones de daños en los tejidos por sustancias tóxicas, radiación, o traumatismos, que causan estrés metabólico, liberación de radicales libres y alteraciones químicas en los tejidos, reconocidas por estos receptores. (Janeway C, Travers P, Alpert M, Slihomchik MJ. Immunobiology five. 5 ed: Garland Pub.; 2001. 732 p.; Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. Science. 2002; 296 (5566) : 301-5. Epub 2002/04/16; Beutler BA. TLRs and innate immunity. Blood. 2009;113 (7) : 1399-407. Epub 2008/09/02; Moresco EM, LaVine D, Beutler B. Toll-like receptors. Current biology: CB. 2011;21 (13) :R488-93. Epub 2011/07/12).

Así, las células centinela a través de sus PRR y DRR, tienen un papel primordial en la discriminación de qué pertenece ("propio") y qué no pertenece (no "propio") al organismo y en el desencadenamiento de la inflamación y de la respuesta inmunitaria, por medio del reconocimiento de PAMP de los patógenos invasores y de DAMP causados por las células neoplásicas y sustancias tóxicas o alteraciones por traumatismo, conducentes a una situación de peligro real para el organismo humano y animal.

Inmediatamente, estas células centinela dan señal de alarma, desencadenando la respuesta inmunitaria innata a través del sistema de traducción de señal NF-κB (Nuclear Factor-κB), que conduce a la secreción de citocinas pro-inflamatorias y del sistema de transducción de señal IRF que produce los interferones de tipo I alfa y beta. Estas citocinas en conjunto, actuando sobre las células y los vasos, causan un proceso inflamatorio local, para contener inicialmente el agente invasor, autólogo (células tumorales), heterólogo (microorganismos, priones, injertos y trasplantes) o alogénico (injertos y trasplantes), o reparar situaciones de peligro. Esta contención se lleva a cabo a través de los anticuerpos, pre-existentes, las proteínas de fase aguda opsonizantes y a través de leucocitos y macrófagos, que pasan a fagocitar y a destruir los microorganismos extracelulares e intracelulares respectivamente, o a eliminar otros agentes etiológicos de cualquier origen.

En la gota, en la silicosis, en las agresiones químicas, en los granulomas de cuerpo extraño, en los traumas, el proceso inflamatorio se forma para eliminar en caso de ser posible el agente causal y luego inducir la cicatrización y la regeneración de los tejidos. Cuando el agente causal no es eliminado, la inflamación se perpetúa y causa una dolencia inflamatoria crónica incurable o incontrolable, estable o progresiva, que compromete la vida o la salud de los pacientes.

Interacción e integración de la inmunidad innata con la inmunidad adaptativa

Simultáneamente, en el sitio de la invasión, de la agresión y de la inflamación, las células de la inmunidad con función CPA (Células Presentadoras de Antígeno), tales como las células dendríticas y los macrófagos, pinocitan y fagocitan los microorganismos, o las células tumorales, o las células trasplantadas, entre otros agentes agresores, y procesan sus antígenos. Estas células CPA pulsadas por antígenos migran a los ganglios linfáticos regionales y los activan. Las células CPA en los ganglios linfáticos, activados y maduros, presentan los antígenos a los linfocitos, secretan citocinas y de este modo inducen, coordinan, polarizan, amplifican y mantienen una respuesta inmunitaria adaptativa específica para el germen invasor, o para la célula neoplásica, o para las células trasplantadas, u o para otro agente agresor, permitiendo su combate y eliminación, cuando factible, y la consecuente cura de la infección o la inflamación, y la reparación y la regeneración o la cicatrización de las lesiones.

Así, estos mecanismos inmunes combaten la enfermedad a través de las respuestas innatas y adaptativas de manera integrada y sinérgica, realizadas por las células centinelas, centinelas de función CPA y efectores de la inmunidad innata, celulares y moleculares, en conjunto con los efectores celulares y moleculares de la inmunidad adaptativa que son respectivamente linfocitos, citocinas y anticuerpos.

Por tanto, la interacción de las dos inmunidades innata y adaptativa, en el contexto de una infección o una respuesta inmunitaria frente a un agente agresor de cualquier tipo permite combatir la enfermedad de una manera integrada y sinérgica. La integración de los dos se produce inicialmente por la acción de las células de la inmunidad innata con

función CPA, tales como las células dendríticas y los macrófagos, pero principalmente por la actividad de las células dendríticas, ya que son las únicas capaces de iniciar una respuesta inmunitaria adaptativa primaria contra un agente infeccioso o parasitario, protegiendo de forma eficaz al organismo.

5 Como ya se ha indicado, los macrófagos también funcionan como células CPA, pero están más especializados e involucrados como parte del mecanismo efector, en la fagocitosis y la eliminación de microorganismos. Los linfocitos B, cuando ya son maduros, son también células CPA, y su acción más conocida es la presentación de antígenos a los linfocitos T en el marco de la cooperación de ambos linfocitos para la producción de anticuerpos contra antígenos T-dependientes, de la respuesta de inmunidad activa. Los macrófagos, como otras células mieloides, están también involucrados en la supresión de la respuesta inmunitaria en el cáncer y en las infecciones crónicas incurables. En estos casos su actuación es desfavorable para la defensa del organismo, ya que suprimen la respuesta inmunitaria y facilitan el crecimiento de tumores. La enfermedad tumoral maligna tiene como característica inicial el provocar una inflamación silenciosa, imperceptible, y al final volverse extremadamente proinflamatoria y sintomática asociada a la actuación del linfocito Th17, lo que por lo general lleva al paciente a un sufrimiento prolongado.

15 Cuando las moléculas coestimuladoras no están expresadas en la superficie de las células CPA, por ausencia de la señal de alarma caracterizada por la no activación de los PRR por los PAMP y los DAMP, sólo se produce la primera señal, dada por el TCR. Después de la unión del TCR con el antígeno en ausencia de la segunda señal, el linfocito T se convierte en específicamente tolerante al antígeno presentado y aborta la respuesta inmunitaria.

20 Por otro lado, al unirse la molécula CD40L de los linfocitos T activados a la molécula CD40 de las células CPA, aumenta significativamente la expresión de las moléculas CD80 y CD86, potenciando la respuesta en curso, fenómeno que tiene lugar sólo cuando la respuesta T adaptativa ya está actuando en la defensa del organismo. La tercera señal, dada por citocinas tales como IL-1, es generada solamente por las células CPA después de la unión de las moléculas coestimuladoras y la emisión de la segunda señal. La IL-1 secretada por las células CPA actúa sobre los linfocitos y conduce a la expresión completa del receptor para IL-2 y la producción de esta citocina por el linfocito virgen o memoria involucrado en la respuesta, iniciando a la expansión clonal.

30 Por lo tanto, la activación de la inmunidad innata por patógenos es la clave para desencadenar la segunda y la tercera señal y aparecer una inmunidad potencialmente eficaz, a través de la activación completa de los linfocitos T involucrados en la respuesta. Sin la aparición de la segunda y de la tercera señal, la respuesta es abortada y se genera una tolerancia específica al antígeno presentado.

35 Al tiempo que los neutrófilos, monocitos y macrófagos inician el combate, las bacterias y otros agentes etiológicos activan las células dendríticas y los macrófagos, locales y recién llegadas, mediante la unión de los PAMP con los PRR en las células presentadoras de antígeno (CPA). Estas células fagocitan, pinocitan bacterias y antígenos bacterianos, procesándolos e iniciando el proceso de maduración. Las células dendríticas activadas y en maduración ahora migran a los ganglios linfáticos regionales para presentar antígenos e iniciar la respuesta inmunitaria contra el agente invasor.

40 Las células CPA maduras pulsadas por los antígenos, principalmente las células dendríticas en los ganglios linfáticos colaboran con los linfocitos T y B e inician la respuesta adaptativa. Las células dendríticas son las células más potentes para la presentación de antígenos y las únicas células CPA capaces de activar un linfocito T CD4 virgen y comenzar una respuesta inmunitaria nueva.

45 Después de un período de aproximadamente siete días en el ganglio linfático, gracias a la colaboración entre los linfocitos T CD4 vírgenes, que se convierten en T CD4 Th2, con los linfocitos B y con las células dendríticas presentadoras de los antígenos, se inicia la diferenciación de los linfocitos B específicos sensibilizados. Estas células B, ahora activadas, reconocen los antígenos bacterianos por las inmunoglobulinas de superficie, después del contacto con estos antígenos, proliferan, maduran y se diferencian en plasmocitos que pasan a secretar ahora anticuerpos específicos contra esta bacteria. Las infecciones de todo tipo, bacterianas, virales, micóticas y parasitarias, pueden en general, en la fase aguda evolucionar para una curación completa con regeneración y cicatrización, o para una curación con secuela. También pueden evolucionar a una cronicidad incurable, con o sin control de la enfermedad, a cronicidad con curación, con o sin secuelas, o a la muerte.

55 Polarización de la respuesta inmunitaria

Los perfiles inmunológicos conocidos e inducidos por las células dendríticas por el contacto directo e indirecto con las diferentes citocinas y generados por las células T CD4 son de cuatro tipos:

- 60 a) perfil Th1 celular, que genera la inmunidad celular mediada por células
- b) perfil Th2 humoral, que genera inmunidad humoral mediada por anticuerpos
- 65 c) perfil Th17 tisular o inflamatorio, que genera la inmunidad tisular inflamatoria, mediada también por células y citocinas que inducen una importante inflamación para la eliminación de ciertos patógenos, y

d) perfil de Treg / Tr1, que suprime la respuesta inmunitaria y la controla, inhibiendo los otros tres perfiles descritos anteriormente, asegurando el retorno del organismo al estado de equilibrio.

5 e) perfiles aún no plenamente establecidos, como Tfh (colaborador folicular), de la respuesta humoral, perfil Th9 para ciertos parásitos, u otros perfiles que puedan ser descubiertos.

10 De este modo, los diferentes perfiles aseguran la defensa del organismo y la eliminación de agentes etiológicos heterólogos (infectiosos) invasores y autólogos colonizadores (neoplasias). El último perfil asegura la terminación de la respuesta inmunitaria, el equilibrio, la regeneración, el retorno seguro a la normalidad e impide la autoagresión y la alergia, por lo que es vital para la salud y la preservación de la especie humana y de los animales, por lo que otros perfiles.

15 El fenómeno de la polarización de la respuesta inmunitaria se define como el predominio de un cierto perfil inmunológico como Th1 o Th2 a expensas de otros perfiles que se vuelven secundarios o nulos. Este fenómeno ocurre de acuerdo con el tipo de ataque sufrido por el organismo. Es decir, de acuerdo con el tipo de infección, patología, y fase de la infección o fase de la patología, predomina un tipo de respuesta inmunitaria, que puede ser celular, humoral, tisular o inmunorreguladora, mientras que los otros tipos de respuesta inmunitaria son inhibidos, lo que resulta en el fenómeno de la polarización.

20 Por definición, en la polarización predomina un perfil, sin embargo de que los otros perfiles no dominantes sean también necesarios, expresados y ayuden de manera complementaria a eliminar la enfermedad. Por ejemplo, en la *tuberculosis* es la aparición de las células Th17 en el pulmón, lo que permite que las células Th1 se asienten y puedan conducir a la cura de esta infección en el parénquima pulmonar (Stockinger, B. and Veldhoen, M. Differentiation and function of Th17 T cells. Current Opinion in Immunology, 19 (3), pp. 281-286. 2007). En las
25 infecciones virales, las células CTL de perfil Th1 destruyen las células infectadas por virus, para eliminar los virus. Sin embargo, se requieren anticuerpos para prevenir que el virus infecte otras células sanas y de esta manera prevenir la propagación de la infección. El conjunto de los dos perfiles coordinados es esencial para la curación de ciertas infecciones virales. Ciertas infecciones intestinales por bacilos Gram-negativos extracelulares, requieren, para su curación en la etapa final, además del perfil Th2, la generación de un perfil de Th17 suplementario, capaz de
30 generar una fuerte inflamación, necesaria para eliminar este tipo de bacterias.

35 En conclusión, dado que las células dendríticas son las únicas células CPA capaces de iniciar una respuesta inmunitaria adaptativa primaria y son las más potentes para desencadenar una respuesta inmunitaria secundaria específica, de cualquier perfil, son ellas entonces las que comandan la interacción y la integración de la inmunidad innata con la inmunidad adaptativa para producir una respuesta inmunitaria eficaz capaz de curar una enfermedad. Las células dendríticas, en colaboración con otras células CPA y centinelas y en contacto con diferentes agresores en diferentes estados funcionales, en los locales de la inflamación, en los ganglios linfáticos, en el bazo y en las mucosas, son capaces de inducir, coordinar, polarizar y amplificar la respuesta inmunitaria adaptativa, primaria y secundaria, específica para los péptidos de los agentes patógenos invasores, por ejemplo, que en cada caso es la
40 más adecuada para la eliminación de la infección en curso.

45 Por lo tanto, las células dendríticas y otras células CPA son las células clave de la respuesta inmunitaria innata, ya que evalúan la naturaleza del agente etiológico autólogo y heterólogo, es decir, el tipo de patógenos o de células colonizadoras, y auxiliadas por las otras células centinelas miden y evalúan el tamaño de la agresión heteróloga o autóloga, su extensión, su intensidad y agresividad, además de comandar la respuesta adaptativa con el perfil y la intensidad requeridos para la eliminación del patógeno.

50 Tras la diferenciación puede tener lugar una rediferenciación inducida por el microambiente y/o por el tipo de antígeno o su presentación, en la que un perfil de Th1 o Th2 puede ser intercambiado por un perfil inflamatorio o un perfil inmunosupresor o viceversa. Esta extrema plasticidad del sistema inmunológico para diferenciarse o rediferenciarse en cualquier dirección apunta a una ventana estratégica, para la manipulación del sistema inmunológico, durante la infección, cuando la dirección tomada por la polarización no está siendo la mejor para alcanzar la curación del proceso infeccioso o neoplasia.

55 Como ejemplo ilustrativo, existe lo que se produce en una infección grave o en una septicemia cuando la inflamación masiva causada por el gran número de microorganismos que afectan las células centinelas en todo el organismo, induce aún un perfil Th17, que a su vez aumenta más la inflamación y por lo tanto pasa a ser perjudicial llevando a la destrucción de tejidos, en lugar de inducir la curación. En estos casos, el perfil Th17, por la destrucción de tejidos y la amplificación de la inflamación, es el principal responsable de la aparición de complicaciones clínicas graves tales como SDRA (síndrome de dificultad respiratoria en adultos), shock pulmonar, insuficiencia renal, o de shock renal, que comprometen la curación.
60

65 La rediferenciación de la polarización para el perfil Th1 o Th2, con la inhibición de la inflamación masiva es el camino lógico y estratégico de una inmunoterapia diseñada o elaborada para tratar de revertir este tipo de situación dramática y letal, durante una infección severa o durante una sepsis grave, que tienen una mortalidad y una morbilidad significativas y para los cuales la terapia con antibióticos y otros antimicrobianos en los patrones actuales,

como modalidad única antiinfecciosa tiene resultados decepcionantes. El mismo ejemplo se aplica a las infecciones graves bacterianas intracelulares, fúngicas, virales e infestaciones parasitarias, con extensa destrucción de tejidos y con inflamación masiva, generalmente de mal pronóstico.

5 Uso de adyuvantes para estimular la respuesta inmunitaria

Los organismos humano y animal no suelen producir anticuerpos contra las proteínas solubles, lo que exige el uso de los adyuvantes denominados no específicos o no relacionados para obtener la respuesta inmunitaria deseada. Estos adyuvantes utilizados desde los albores de la inmunología, en las inmunizaciones y en las aplicaciones de vacunas, estaban y están compuestos de partes de microorganismos, aceites minerales y otras sustancias que activaban la inmunidad innata, que entonces da la señal de alarma y la orden necesaria para el desarrollo de la respuesta inmunitaria deseada a la proteína o a la vacuna en cuestión (GOLDSBY RA, KINDT TJ, OSBORNE BA. *IMUNOLOGIA DE KUBY*. 6 ed: ARTMED; 2008. 704 p) ; (Janeway C, Travers P, Walport M, Slihomchik MJ. *Immunobiology five*. 5 ed: Garland Pub.; 2001. 732 p.); (VOLTARELLI JC. *IMUNOLOGIA CLINICA NA PRATICA MEDICA: ATHENEU EDITORA*; 2009); (Janeway CA, Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology*. 2002;20:197-216. Epub 2002/02/28.); (Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002 ; 296 (5566) : 301-5. Epub 2002/04/16.); (Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature*. 2007 ; 449 (7161) : 19-26. Epub 2007/09/28.); (Beutler BA. TLRs and innate immunity. *Blood*. 2009 ; 113 (7) : 1399-407. Epub 2008/09/02.); (Moresco EM, LaVine D, Beutler B. Toll-like receptors. *Current biology* : CB. 2011 ; 21 (13) : R488-93. Epub 2011/07/12).

Cabe señalar que el uso de adyuvantes para la inmunización, a pesar de ser un recurso de los más antiguos y todavía actual, altamente utilizado y esencial para vacunas y para los estudios de inmunología, sólo se consideró como un efecto no específico útil. No se imaginó por más de un siglo, a través de él, el papel fundamental de la inmunidad innata en la discriminación de lo que es "propio" y no "propio" ni la capacidad vinculada, única y fundamental, para la supervivencia de la especie y los animales humanos de dar la señal de alarma y la orden para iniciar o no iniciar o inhibir una respuesta inmunitaria protectora o la curación innata y adaptativa integrada (GOLDSBY RA, KINDT TJ, OSBORNE BA. *IMUNOLOGIA DE KUBY*. 6 ed: ARTMED; 2008. 704 p); (Janeway C, Travers P, Walport M, Slihomchik MJ. *Immunobiology five*. 5 ed: Garland Pub.; 2001. 732 p.) ; (VOLTARELLI JC. *IMUNOLOGIA CLINICA NA PRATICA MEDICA: ATHENEU EDITORA*; 2009); (Janeway CA, Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annual review of immunology*. 2002;20:197-216. Epub 2002/02/28.); (Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*. 2002;296 (5566) : 301-5. Epub 2002/04 /16.) : (Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature*. 2007 ; 449 (7161) : 419-26. Epub 2007/09/28.); (Beutler BA. TLRs and innate immunity. *Blood*. 2009 ; 113 (7) : 1399-407. Epub 2008/09/02.); (Moresco EM, LaVine D, Beutler B. Toll-like receptors. *Current biology* : CB. 2011 ; 21 (13) : R488-93. Epub 2011/07/12).

De los tratamientos antiinfecciosos y antineoplásicos actuales

Un gran número de materiales de uso médico, horas de de trabajo, medicamentos y camas de hospital podría ser utilizado mejor con una terapia en que se evaluaran, priorizaran y optimizaran las variables que afectan el desplazamiento del equilibrio biológico en favor de la paciente y modularan su sistema inmunológico, disminuyendo sus ineficiencias y posibilitando un gran número de altas médicas y en menos tiempo. El estado de la técnica aún no mostró alternativas para realizar intencionalmente una repolarización del sistema inmunológico en tiempo real, es decir, a tiempo para cambiar o invertir en respuesta a una dolencia o enfermedad en acción, es posible mejorar la calidad de vida, o extender la esperanza de vida, o ayudar en el proceso de la lucha contra la dolencia o enfermedad en curso en el paciente.

La resistencia bacteriana, fúngica, viral, parasitaria y neoplásica a los antibióticos, antifúngicos, antiparasitarios y antineoplásicos utilizados en la práctica clínica es señalado como el principal obstáculo para la cura de dolencias bacterianas, fúngicas, virales, parasitarias y tumorales y es considerado un grave problema de salud a escala global. Este problema se contorna mediante el uso de un uso adecuado y racional de los antibióticos, antimicrobianos y antineoplásicos y con la llegada de nuevos fármacos más potentes. Sin embargo, la resistencia, más pronto o más tarde, inevitablemente siempre se establece y, hasta el momento, no se ha encontrado una solución a este problema. Como los antibióticos, antifúngicos, antivirales, antiparasitarios y antineoplásicos son considerados como la única modalidad de tratamiento antiinfeccioso, antiparasitarios y antineoplásicos válida y eficaz, la perspectiva de futuros tratamientos es inquietante y oscuro, debido al fenómeno de la resistencia microbiana y tumoral.

Los antibióticos, antifúngicos, antivirales, antiparasitarios y antineoplásicos se pueden utilizar en cualquier etapa de la infecciosa bacteriana, fúngica, viral, parasitaria y tumoral. Sin embargo, los antibióticos, antimicrobianos y antineoplásicos fallan para curar la mayoría de las dolencias bacterianas, fúngicas, virales, parasitarias y tumorales ya avanzado, severas y diseminadas que tienen, en general, una muy alta tasa de mortalidad y la morbilidad.

Por otro lado, el descubrimiento de nuevos fármacos está dirigido a drogas que sean capaces de eliminar el agente etiológico y curar la infección, infestación y neoplasia, basada en el concepto de un medicamento único capaz de curar una enfermedad infecciosa, parasitaria y neoplásica.

Tratamientos de las neoplasias en la actualidad

Las citocinas, tales como la interleucina 2 y los interferones de tipo I alfa y beta, se usan para el tratamiento de tumores inmunogénicos tales como melanoma y hipernefoma. Las citocinas con función de factores de crecimiento de colonias de la médula ósea se utilizan para combatir la anemia, leucopenia, citopenias de los elementos figurados de la sangre periférica, causadas por dolencias o tratamientos, con buenos resultados. Los interferones de tipo I son ampliamente utilizados para combatir hepatitis virales B y C, con buenos resultados, y con resultados menos significativos para el tratamiento de la esclerosis múltiple. Los trasplantes de médula ósea autólogos y alogénicos son utilizados para el tratamiento del cáncer. Las inmunoterapias pasivas con células dendríticas con CTL CD8 leucocitos, autólogos o alogénicos, con o sin citocinas, osn utilizados para el tratamiento de ciertos tumores, con resultados todavía no muy significativos, o significativos, mas limitado a determinadas patologías de excepción, como tumores inducidos por virus que crecen en pacientes con trasplante de inmunodeprimidos. En estos casos, la inmunoterapia pasiva con células T CTL CD4 y CD8 específicas para el virus EBV, por lo general tiene éxito y cura estos tumores excepcionales que sólo crecen en los pacientes inmunodeprimidos. Sin embargo, es de notar que estas técnicas, así como otras similares, pero menos eficaces, no han desarrollado agentes o conjuntos de agentes capaces de modular eficazmente el sistema inmunológico con el fin de pasar a reaccionar contra cualquier patógeno invasor (infección), o colonizador autólogo (tumores) que esté presente en el cuerpo del individuo que se va a tratar, o que pueda resolver estados de desautonomía de los sistemas inmunológicos genéticos primarios o secundario, que conducen a estados de auto-agresión por el sistema inmunológico, que debería defender el cuerpo de la agresión.

Entre los ejemplos se incluyen el tratamiento con éxito del cáncer que utiliza un agente inmunomodulador que contiene patrones moleculares reconocibles por los PPR, el uso de vacuna BCG como una de las escasas técnicas establecidas, aceptadas, que de manera probada, manera de alguna utilizan la inmunomodulación como un medio de tratamiento. Brake et al describen el uso de la BCG en inmunoterapia de pacientes con cáncer superficial de la vejiga, que se encontraban en Estadio T-1 (Brake M, Loertzer H, Horsch R, Keller H (2000). "Long-term results of intravesical *Bacillus Calmette-Guérin* therapy for stage T1 superficial bladder cancer". UROLOGY 55 (5): 673- 678). La inmunoterapia se aplicó en los pacientes después de la resección transuretral completa del tumor en la vejiga, siendo aplicado un segundo ciclo de BCG en el caso de recidiva de tumores superficiales. La conclusión fue que la inmunoterapia con BCG después de la resección transuretral de tumor de vejiga representa un tratamiento primario muy efectivo para el Estadio T-1 del cáncer de vejiga, siendo del 89% la tasa de supervivencia libre de tumor en todos los pacientes.

Siguiendo esta línea, Burger et al presentaron un ensayo randomizado comparativo, en el que los pacientes con cáncer de vejiga no invasivo de la capa muscular hicieron uso de BCG o de la terapia celular con macrófagos autólogos (BEXIDEM®) (Burguer M, Thiounn N, Denzinger S, Kondas J, Benoit G, et al (2010). "The application of adjuvant autologous intravesical macrophage cell therapy VS. BCG in non-muscle invasive bladder cancer: a multicenter, randomized trial. Journal of Translation Medicine, 8:54. doi: 10.1186/1479-5876-8-54). En comparación con el tratamiento con BCG, la incidencia de eventos adversos fue significativamente menor en el tratamiento con BEXIDEM (26% y 14%, respectivamente). En contraste, la tasa de recidiva del tumor en los pacientes tratados con BEXIDEM fue significativamente mayor que en los pacientes que recibieron la BCG como terapia auxiliar.

Donald et al describieron el uso del BCG como una forma de inmunoterapia en pacientes con un cuadro de melanoma (Donald L. Morton, M.D., Frederick R. Eilber, M.D., E. Carmack Holmes, M.D., John S. Hunt, M.D., et al (1974). "BCG Immunotherapy of Malignant Melanoma: Summary of a Seven-year Experience". Ann. Surg., P: 635-641). Los pacientes seleccionados para el estudio presentaban melanoma recurrente, dolencia residual conocida o alto riesgo de desarrollar recidiva. En primer lugar, fueron aplicadas inyecciones directas en los nódulos malignos de melanoma utilizando 0,1-0,5 cm³ de BCG en cada lesión subcutánea e intracutánea. Los pacientes que se encontraban en el Estadio II fueron tratados con inmunoterapia con BCG en solitario o con BCG y células de melanoma alogénicas. BCG fue administrada en solitario o como adyuvante mezclada con células tumorales en los pacientes en Estadio III de la enfermedad. Los pacientes con metástasis intradérmica que fueron tratados con inyecciones intratumorales de BCG fueron los que respondieron mejor al tratamiento, siendo que tres factores aparentaron estar correlacionados con la respuesta a la inmunoterapia con BCG: la ubicación de la metástasis, la cantidad de tumor presente y la inmunocompetencia del paciente. Fue observada baja actividad antitumoral de BCG en pacientes con enfermedad voluminosa o metástasis viscerales. El resultado mostró que el 31% de los pacientes con metástasis intradérmica se encontraron libres de recidiva de la enfermedad durante un período de hasta 6 años después del inicio de la inmunoterapia.

La inmunoterapia descrita por Grant et al consiste en el uso de BEC2 (anticuerpo antiidiotípico que imita el gangliósido GD3 presente en la superficie de la mayoría de los tumores de cáncer de pulmón de células pequeñas) en combinación con BCG (Grant SC, Kris MG, Houghton AN, Chapman PB (1999). "Long Survival of Patients with Small Celi Lung Cancer after Adjuvant Treatment with the Anti-Idiotypic Antibody BEC2 Plus *Bacillus Calmette-Guérin*". Clinical Cancer Research, Vol. 5, 1319-1323). La dosis aplicada en pacientes con cáncer de pulmón fue de 2,5 mg durante un período superior a 10 semanas. Los pacientes tratados con inmunoterapia que tenía un aumento significativo en la supervivencia y en la supervivencia libre de reincidencia de la enfermedad en comparación con un grupo similar de pacientes.

Popiela et al evaluaron el uso de la inmunoterapia con BCG y la quimioterapia con FAM (5-fluorouracilo, adriamicina, mitomicina C) en pacientes con cáncer gástrico en Estadio III o IV de cáncer anteriormente sometidos a una gastrectomía curativa (Popiela T, Kulig J, Czupryna A, Sczapanik AM, Zembala M (2004). " Efficiency of adjuvant immunochemotherapy following curative resection in patients with locally advanced gastric cancer". *Gastric cancer*, 7: 240-245) Los pacientes fueron divididos aleatoriamente en 3 grupos: BCG + FAM, FAM y de control (sólo la cirugía). La dosis de BCG se administrada en la inmunoterapia fue de 2-4 unidades viables por dosis. Se observó, en general, un porcentaje de 47,1% de supervivencia de 10 años en el grupo de inmunoterapia. Powles et al informaron de un estudio en el que los pacientes con leucemia mieloide aguda fueron tratados con BCG y células tumorales alogénicas muertas. La dosis estimada de BCG fue de aproximadamente 10^6 organismos (RL Powles, PJ Selby, DR Jones, JA Russel, HG Prentice, et. al (1977). "Maintenance of remission in acute myelogenous leukemia by a mixture of B.C.G. and irradiated leukemia cells". *THE LANCET*, 1107-1110). Se observó una mejora en los pacientes, pues mostraron remisión durante un período, llevando a la conclusión de que la inmunoterapia combinando células tumorales de leucemia y BCG puede ser eficaz para prolongar la remisión de la enfermedad. De igual manera Vuvan y sus colegas describieron el uso de la inmunoterapia con BCG en pacientes con leucemia no linfocítica aguda (H. Vuvan, D.Fiere, M. Doillon, C. Martin, B. Coiffier, et. al (1978). " BCG Therapy in Acute Non Lymphoid Leukaemias". *Scand J Haematol* 21, 40-46). Se realizó un estudio randomizado en el que los pacientes fueron divididos en 2 grupos: tratados únicamente con quimioterapia y tratados con quimioterapia y BCG, siendo la BCG administrada durante el intervalo de ciclos de quimioterapia en dosis de 6×10^8 unidades viables. El resultado mostró que los pacientes que recibieron inmunoterapia tuvieron una tasa de supervivencia mayor que la del grupo que recibió sólo quimioterapia. Por otra parte, se observó que la BCG parecía ser más eficiente en los pacientes mayores de 40 años.

Por último, Hsueh et al utilizaron una vacuna terapéutica compuesta por células de melanoma Denominada Canvaxin (Hsueh ED, Essner R, Foshag LJ, Ollila DW, Gammon G, et al (2002). " Prolonged Survival After Complete Resection of Disseminated Melanoma and Active Immunotherapy with a Therapeutic Cancer Vaccine". *Journal of Clinical Oncology*, Vol 20, n 23, pp 4549 - 4554). Todos los pacientes fueron sometidos al ensayo con PPD (derivado proteico purificado) antes de recibir el tratamiento con la vacuna. Para los dos primeros tratamientos, la vacuna fue mezclada con BCG. En la primera inyección, fue aplicada BCG en una dosis de 2,7 a $10,8 \times 10^6$ unidades formadoras de colonias en pacientes PPD negativos y la mitad de esta dosis en pacientes con PPD positivo. Fue observada una prolongación de la supervivencia en los pacientes que recibieron después de la operación inmunoterapia activa con Canvaxin.

Los estudios antes mencionados con el uso de BCG, a pesar de estar usando un agente inmunoestimulante diferente del agente causal de la enfermedad o trastorno para causar efectos deseables en los pacientes, ya sea o no en combinación con otros procedimientos y tratamientos médicos conforme se propone en la presente invención, no está sin embargo se valiendo de utilizar múltiples componentes antigénicos con patrones moleculares asociados a patógenos distintos, especialmente una combinación que tenga representantes de bacterias intracelulares y extracelulares, virus, parásitos, hongos y levaduras. Los grupos de investigación y estudios citados encima sólo utilizaron BCG para una función simplemente adyuvante, sin tener en cuenta las bases de la presente invención en que se pretende activar las células de memoria, o vírgenes, que puede estar inactivadas en los más diversos tejidos del cuerpo Por medio de un amplio rango patrones moleculares asociados a patógenos que pueden activar el mayor número posible de células de memoria y efectoras. Por no presentar esta combinación de diferentes agentes antigénicos no específicos distintos capaces de estimular la inmunidad innata y específica como se ha descrito, muchas poblaciones de células inmunes de memoria dejaron de ser activadas de acuerdo a los fundamentos presentados, lo que no dará lugar a una recontextualización, reprogramación y reconducción de la respuesta inmunitaria, que sea tan eficaz como la presentada en la presente invención.

Tampoco el estado de la técnica describe la importancia de los protocolos de inmunización y de las aplicaciones locales y distales de los agentes inmunoestimulantes, ni de cómo se necesita una gran cantidad de aplicaciones en diferentes partes del cuerpo para hacer que, de forma programada e intencional, los patrones moleculares PAMPS y DAMPS lleguen a los tejidos que contienen las células APC en cantidad y calidad suficiente para provocar una respuesta y una polarización óptimas.

Tanaka et al (Tanaka N., Gouchi A. Ohara T., Mannami T., Konaga E., Fuchimoto S., Okamura S., Sato K., Orita K (1994). "Intratatumoral injection of a streptococcal preparation, OK-432, before surgery for gastric cancer. A randomized Trial. Cooperative Study Group of Preoperative Intratumoral Immunotherapy for Cancer". *Cancer*, 74(12): 3097-3103) e Yasue e colaboradores (Yasue M., Murakami M., Nakazato H., Suchi T., Ota K (1981). "A Controlled Study of Maintenance Chemoimmunotherapy VS Immunotherapy Alone Immediately Following Palliative Gastrectomy and Induction Chemoimmunotherapy for Advanced Gastric Cancer". *Cancer Chemother Prasmacol*, 7: 5-10.) informan sobre el uso en pacientes con cáncer gástrico de un agente inmunomodulador preparado a partir de *Streptococcus pyogenes* atenuada, denominado OK-432. Dicho agente es capaz de activar el sistema inmunológico y causar degeneración regional del tejido afectado en los carcinomas de estómago. Tanaka, describe el uso preoperatorio de 10KE de OK-432 inyectado por vía endoscópica, y dosis después de la operación de 1KE a 5KE en inyecciones intradérmicas en el caso de metástasis en los ganglios linfáticos. Tanaka llegó a la conclusión de que las inyecciones intratumorales de OK-432 pueden tener un efecto clínico beneficioso en los pacientes que están en el Estadio II de cáncer gástrico, pues parece mejorar la supervivencia en este subgrupo de pacientes. Yoshida et al

(Yoshida K., Sugiura T., Takifuji N., Kawahara M., Matsui K., et al (2007). "Randomized phase II trial of three intrapleural therapy regimens for the management of malignant pleural effusion in previously untreated non-small cell lung cancer: JCOG 9515. *Lung Cancer*, 58 : 362-368) evaluaron la eficacia y la toxicidad del OK-432 (0,2 KE/kg, siendo la dosis máxima de 10KE/Kg) como terapia intrapleural en el control de la efusión pleural maligna en

5 pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, no tratados previamente. Además del OK-432, también se evaluaron bleomicina y cisplatino junto con etopósido como tratamiento intrapleural. Se concluyó que la mejor terapia intrapleural utilizada fue la de OK-432, ya que fue el que tuvo la mejor tasa de supervivencia libre de enfermedad y la menor tasa de recidiva pleural.

10 Aftergut et al (Kent Aftergut, MD, Mary Curry, MD, Jack Cohen, DO (2005). "*Candida* Antigen in the Treatment of Basal Cell Carcinoma". *Dermatol Surg*, 31: 16-18) estudiaron el uso intralesional de antígenos de *Candida* en el tratamiento de carcinoma de células basales. El estudio muestra que el 56% de los pacientes tuvieron una regresión completa de las células tumorales. Los antígenos fueron administrados en dosis de 0,1 mg por inyección intradérmica. Una vez más, la presente invención se distingue por el uso de una combinación de componentes

15 antigénicos muy elaborados y más complejos que tienen el potencial para lograr resultados más favorables tanto si se usa en solitario o en combinación con otras terapias. El estudio presentado por Miles et al (Miles DW, Towlson KE, Graham R, Reddish M, Longenecker BM, et al. (1996). "A randomised phase II study of sialyl-Tn and DETOX-B adjuvant with or without cyclophosphamide pretreatment of the active specific immunotherapy of breast cancer". *British Journal of Cancer*, 74:1292-1296) investigó la aparición de mejora de la respuesta inmunitaria causada por la asociación de sialil-Tn-KLH con DETOX-B (que contiene en su composición esqueleto de la pared celular de *Mycobacterium phlei*) en pacientes con cáncer pecho cuando eran sometidos a un pretratamiento con baja dosis de ciclofosfamida. Se utilizaron 0,5 ml de la emulsión compuesta de STn-KLH en DETOX-B. Como resultado, se observó que todos los pacientes desarrollaron IgM e IgG contra el sialil-Tn, y los pacientes que recibieron

20 tratamiento previo con ciclofosfamida tuvieron un aumento significativamente mayor de IgM. Korec et al presentaron un estudio en el que 11 pacientes con diferentes tipos de tumores y 3 pacientes con trombocitopenia trombótica púrpura asociada a mitomicina-C, fueron tratados con perfusión de plasma extracorporeal por medio de filtros que contenían proteína A inmovilizada de *Staphylococcus aureus* (Korec S, Smith FP, Schein PS, Phillips TM (1984). "Clinical experiences with extracorporeal immunoperfusion of plasma from cancer patients". *J Biol Response Mod*. 3(3): 330-5) Como resultado, fue observado un efecto antitumoral modesto generado por la inmunoperfusión. En 10

30 pacientes tratados adecuadamente, hubo una reducción medible del tumor (reducción del 40% en masa del tumor original).

Engelhardt et al (Engelhardt R, Mackensen A, Galanos C (1991). "Phase I Trial of Intravenously Administered Endotoxin (*Salmonella abortus equi*) in Cancer Patients". *CANCER. RESEARCH* 51, 2524 - 2530) describieron un

35 ensayo relacionado con la administración intravenosa de endotoxina, preparada a partir de lipopolisacárido de *Salmonella abortus equi* (esencialmente libre de proteínas y ácidos nucleicos). Se seleccionaron 24 pacientes de 33 a 67 años, siendo 10 diagnosticados con cáncer colorrectal, 5 con cáncer de pulmón de células no pequeñas, 2 con carcinoma, 2 con cáncer de páncreas, 2 con sarcoma, 1 con cáncer de vesícula biliar, 1 con cáncer en el ano y 1 con cáncer en la tráquea. Los pacientes con cáncer pancreático no recibieron ningún tratamiento previo, mientras que los demás pacientes habían sido tratados con radiación, quimioterapia y/o cirugía, siendo estos tratamientos finalizados

40 cuatro semanas antes del comienzo del tratamiento del estudio. La dosis inicial aplicada de endotoxina fue de 0,15 ng / kg, siendo que la dosis máxima tolerada es 4 ng / kg. Los resultados obtenidos mostraron dos respuestas parciales y cuatro resultados de estabilización de la enfermedad en pacientes con cáncer colorrectal, siendo que estos pacientes se encontraban en el grupo con el mayor número de participantes, indicando que no necesariamente este tipo de tumor tiene más sensibilidad al lipopolisacárido que otros tumores estudiados en el estudio. También se verificó la estabilización de la enfermedad durante un período en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de células renales y cáncer traqueal. Otto et al describen la fase II del estudio presentado por Engelhardt. En esta fase, 15 pacientes con cáncer de pulmón, de células no pequeñas y 27 con cáncer colorrectal

45 recibieron 4 inyecciones de endotoxina (dosis 4ng/kg) y 1600mg de ibuprofeno por vía oral cada 2 semanas. Los resultados mostraron una mejora en 3 pacientes con cáncer colorrectal, de los cuales 2 pacientes presentaron remisión parcial del tumor, que se estabilizó durante 7 y 8 meses, respectivamente, y uno de ellos tuvo una remisión completa del tumor. También se observó un mínimo efecto antitumoral en los pacientes con cáncer de pulmón.

Como se puede observar en los ejemplos del estado de la técnica descritos por Aftergut (Kent Aftergut, MD, Mary Curry, MD, Jack Cohen, DO (2005). "*Cándida* Antigen in the Treatment of Basal Celi Carcinoma". *Dermatol Surg*, 31: 16-18), Miles (Miles D, Towlson KE, Graham R, Reddish M, Longenecker BM, et al. (1996). "A randomised phase II study of sialyl-Tn and DETOX-B adjuvant with or without cyclophosphamide pretreatment of the active specific immunotherapy of breast cancer". *British Journal of Cancer*, 74:1292-1296), Korec (Korec S, Smith FP, Schein PS, Phillips TM (1984). "Clinical experiences with extracorporeal immunoperfusion of plasma from cancer patients". *J Biol Response Mod*. 3(3): 330-5), Engelhardt (Engelhardt R, Mackensen A, Galanos C (1991). "Phase I Trial of Intravenously Administered Endotoxin (*Salmonella abortus equi*) in Cancer Patients". *CANCER RESEARCH* 51, 2524 - 2530) y Otto (Otto F, Schmid P, Mackensen A, ehr U, Seiz A, et. al (1996). "Phase II trial of intravenous endotoxin in patients with colorectal and non-small cell lung cancer". *Eur J Cancer*, 32A(10): 1712 - 8) se utilizó un

60 único componente antigénico en cada estudio respectivo.

65 William B. Coley fue un pionero en las investigaciones sobre el uso de la inmunoterapia en pacientes con cáncer

(Edward F. McCarthy, MD. "The Toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas". The Iowa Orthopaedic Journal, v. 26, p: 154-157). En los estudios llevados a cabo por Coley, éste describe el uso exitoso de *Streptococcus* junto con *Serratia marcescens* (Coley Toxin) en el tratamiento de sarcoma de tejido blando, tomando nota también de que tal inmunoterapia no fue eficaz en el tratamiento de otros tipos de cáncer, como los melanomas y carcinomas. Debido a que estos estudios fueron realizados hace más de un siglo y fueron relativamente olvidados por la medicina moderna (muy centrada en la obtención de un medicamento único para las enfermedades), sus conceptos primordiales y posibilidades no fueron explorados ni aclarados. Coley sólo utilizó en la composición dos componentes bacterianos, y no exploró el proceso de utilización ni todas las posibilidades de modulación del sistema inmunológico tal como se describe en la presente invención. Hayashi et al fueron capaces de avanzar más en la comprensión de la importancia del sistema inmunológico y también combinaron dos componentes antigénicos, sin embargo, estos conceptos no fueron aún explorados en su totalidad. En este trabajo, Hayashi et al evaluaron el efecto de la importancia de los ganglios linfáticos en el tratamiento de pacientes con cáncer de ovario con el esqueleto de la pared celular de *Mycobacterium bovis* asociados con el bacilo de Calmette-Guérin (BCG-CWS) (Hayashi A, Nishida Y, Yoshii S, Kim SY, Uda H, Hamasaki T (2009). "Immunotherapy of ovarian cancer with cell wall skeleton of *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin : Effect of lymphadenectomy". *Cancer Sei*, vol.100, n°10, p: 1991-1995). Después de la extirpación quirúrgica de los tumores, los pacientes recibieron por vía intracutánea dosis de 2-200 µg de BCG-CWS. Fue utilizada dicha vacuna en el estudio debido a su potencial para inducir (IFN)-y y estimular las células de Langerhans (diferenciadas posteriormente a células dendríticas) como se informa en ensayos anteriores. El pronóstico de los pacientes después de la cirugía sin haber pasado por linfadenectomía fue mucho mejor que el de los que la hicieron, lo que confirma la importancia de los ganglios linfáticos en la obtención de la respuesta inmunitaria contra el cáncer de ovario, en respuesta a la inmunoterapia con BCG-CWS. A pesar de ya utilizar dos componentes antigénicos distintos e inespecíficos de la enfermedad que se está tratando, los mismos proceden sólo de dos bacterias, no presentando en su composición otros patrones moleculares asociados a patógenos como los que se encuentran en virus, parásitos, hongos y levaduras.

De acuerdo con los conocimientos existentes en el estado de la técnica, se observa el papel imprescindible del sistema inmunológico para el combate a las enfermedades, pero sin embargo pocas tecnologías fueron capaces de estimular y inmunomodular efectivamente este sistema para combatir mejor la enfermedad, cuando ya se ha establecido.

Por otra parte, cabe destacar que la curación de infecciones y neoplasias, contrariamente a lo que se predica y es aceptado hoy en día, es realizada siempre por el sistema inmunológico. Los antibióticos, antimicrobianos y medicamentos antineoplásicos actúan principalmente como un facilitador importante y a menudo esencial para la curación de las infecciones. En otras palabras, los antibióticos no logran curar la enfermedad en sí, sino que ayudan y facilitan el proceso de curación llevado a cabo por el sistema inmunológico. Los antibióticos actúan en este sentido, como un desplazador del equilibrio biológico en favor del organismo infectado, para inhibir, o matar, o destruir una parte de las bacterias "*in vivo*", a través de su acción específica, lo que permite una acción más rápida y eficaz del sistema inmunológico. Sin embargo, no existe ningún trabajo *in vivo* que demuestre la eliminación de los microorganismos por la acción de los antimicrobianos.

Partiendo de este presupuesto científico nuevo, es necesario el desarrollo de agentes inmunomoduladores, composiciones inmunogénicas y métodos de tratamiento capaces de seleccionar agentes que permitan la inducción de una respuesta inmunitaria innata, en tiempo real, que recontextualice, reprogramme y reconduzca el sistema inmunológico a una nueva respuesta adaptativa específica eficaz para la enfermedad siendo tratada a través de la presentación apropiada de antígenos de las células patogénicas a las células CPA, que por medio de las células de memoria y vírgenes del sistema inmunológico, lucharán eficazmente contra las enfermedades infecciosas y otras enfermedades presentes en un paciente dado. Es decir, sin la necesidad de generación y administración de un antígeno específico de la enfermedad establecida, usando para eso los propios mecanismos del sistema inmunológico después de su recontextualización, reprogramación, reconducción de manera óptima e inducida por agentes inmunomoduladores, alcanzando respuestas inmunes con velocidad y eficacia equivalentes a las respuestas inmunes provocadas por repetidas invasiones de un patógeno ya previamente memorizado por el sistema inmunológico.

Es decir, los nuevos agentes inmunomoduladores, composiciones inmunogénicas y métodos de tratamiento podrían cambiar el equilibrio biológico de los antimicrobianos y quimioterapéuticos en todas las neoplasias, infecciones e infestaciones. Este nuevo enfoque terapéutico combinaría el uso simultáneo de la inmunoterapia con antibióticos tradicionales, y en los procesos infecciosos de cualquier tipo y en las infestaciones parasitarias, aumentando las posibilidades de curación y pudiendo reducir drásticamente la morbilidad y la mortalidad por estas enfermedades en comparación con las terapias que tienen en cuenta sólo la función de los antimicrobianos y quimioterapéuticos aislados.

En Rozy et al., *Pneumonol. Alergol. Pol.*, (2008), 76: 353-359 se hace referencia a inmunoestimulantes bacterianos, su mecanismo de acción y su aplicación clínica en enfermedades respiratorias.

En Grevers et al., *Advances in Therapy*, (2000), 17: 103-116 se hace referencia al tratamiento de infecciones recurrentes del tracto respiratorio con un lisado bacteriano polivalente.

En Cruz et al., European Urology Supplement, (2009), 8: 762-768 se hace referencia el tratamiento de infecciones recurrentes del tracto urinario con Uro-Vaxom®.

5 En el documento WO2004/096270 A1 se hace referencia a preparaciones antigénicas bacterianas y a inmunocomposiciones farmacéuticas que contienen fracciones de partículas de lisados mecánicos bacterianos y a procedimientos para su preparación.

10 En el documento WO2008/080628 A1 se hace referencia al uso de una vesícula lipídica para la preparación de un medicamento.

Objetivos de la invención

15 La invención se define en las reivindicaciones y proporciona, en un aspecto, una composición inmunogénica que comprende:

(i) 0,004 ng / ml de tuberculina de Koch

20 (ii) 0,004 g / ml derivado proteico purificado del bacilo de Koch (PPD)

(iii) 6,94 µg / mL de lisado de *Staphylococcus* inactivado que consiste en *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* a partes iguales

25 (iv) 6,94 µg / ml de lisado de *Streptococcus* inactivado que consiste en *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis* a partes iguales

(v) 0,444 µg / ml de estreptoquinasa derivada de la purificación del lisado de *Streptococcus* beta-hemolítico inactivado

30 (vi) 0,111 µg / ml de dornasa derivada de la purificación del lisado de *Streptococcus* beta-hemolítico inactivado

(vii) 6,94 µg / ml de lisado de *Candida* inactivado que consiste en *Candida albicans* y *Candida glabrata* a partes iguales,

35 (viii) 6,94 µg / ml de dermatofitos lisados inactivados que consisten en *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis* y *Trichophyton mentagrophytes* de la variedad interdigital a partes iguales

(ix) 6,94 µg / ml de lisado de *Escherichia coli* enteropatogénico inactivado

40 (x) 6,94 µg / ml de lisado de *Salmonella* inactivado que consiste en *Salmonella bongori*, *Salmonella enterica* y *Salmonella subterranea* a partes iguales

(xi) 7,5 mg / ml de cloruro de sodio

45 (xii) 0,48 mg / ml de fosfato de sodio y heptahidrato dibásico

(xiii) 0,06 mg / mL fosfato de potasio monobásico

50 (xiv) 2,5 mg / ml de fenol;

(xv) agua; e

IL-2 para su uso en terapia.

55 En otro aspecto, la invención proporciona una composición inmunogénica que comprende:

(i) 0,004 ng / ml de tuberculina de Koch

60 (ii) 0,004 g / ml derivado proteico purificado del bacilo de Koch (PPD)

(iii) 6,94 µg / ml de lisado de *Staphylococcus* inactivado que consiste en *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* a partes iguales

(iv) 6,94 µg / ml de lisado de Streptococcus inactivado que consiste en *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis* a partes iguales

5 (v) 0,444 µg / ml de estreptoquinasa derivada de la purificación del lisado de Streptococcus beta-hemolítico inactivado

(vi) 0,111 µg / ml de dornasa derivada de la purificación del lisado de Streptococcus beta-hemolítico inactivado

10 (vii) 6,94 µg / ml de lisado de Candida inactivado que consiste en *Candida albicans* y *Candida glabrata* a partes iguales

(viii) 6,94 µg / ml de dermatofitos lisados inactivados que consisten en *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum cannis* y *Trichophyton mentagrophytes* de la variedad interdital a partes iguales

15 (ix) 6,94 µg / ml de lisado de Escherichia coli enteropatogénico inactivado

(x) 6,94 µg / ml de lisado de Salmonella inactivado que consiste en *Salmonella bongori*, *Salmonella enterica* y *Salmonella subterranea* a partes iguales

20 (xi) 7,5 mg / ml de cloruro de sodio.

(xii) 0,48 mg / ml de fosfato de sodio y heptahidrato dibásico

25 (xiii) 0,06 mg / ml fosfato de potasio monobásico

(xiv) 2,5 mg / ml de fenol; y

(xv) agua;

30 para uso separado o secuencial en terapia en combinación con IL-2.

Por tanto, las composiciones inmunogénicas de la invención comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de diez agentes antígenos inmunoactivos que presentan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y/o patrones moleculares asociados a peligro (DAMP), junto con los vehículos, excipientes, diluyentes o disolventes fisiológicamente aceptables definidos en las reivindicaciones.

En particular, las composiciones inmunogénicas de la invención comprenden agentes antigénicos como se define en las reivindicaciones que tienen patrones moleculares asociados con patógenos inmunoactivos (PAMP) y/o patrones moleculares asociados a peligro (DAMP) seleccionados del grupo que consiste en A) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a bacterias; y (B) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados con hongos y levaduras.

En el presente documento se describen otras composiciones inmunogénicas para la modulación del sistema inmunológico solo a modo de ejemplo y comprenden agentes antigénicos inmunoactivos que presentan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) y/o patrones moleculares asociados a peligro (DAMP) seleccionados de entre el grupo que consiste en: (A) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a bacterias, (B) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a virus, (C) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a hongos y levaduras; (D) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a protozoos; (E) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados con helmintos y/o (F) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a priones.

En el presente documento también se describe el uso de dichas composiciones inmunológicas para la fabricación de medicamentos para la prevención y/o tratamiento de enfermedades infecciosas, enfermedades autoinmunes, enfermedades alérgicas, inflamación, artritis, dolencias inflamatorias, rechazo de trasplantes, afecciones causadas por trastornos vasculares, enfermedades causadas por lesiones cardiovasculares hemorrágicas o isquémicas, isquemia, infarto de miocardio y hemorragia conducentes a daños en tejidos, insuficiencia cardíaca, renal, respiratoria o hepática, cáncer, tumores y neoplasias malignas y benignas.

En el presente documento también se describen métodos para la prevención o el tratamiento de enfermedades infecciosas, enfermedades autoinmunes, enfermedades alérgicas, inflamación, artritis, dolencias inflamatorias, rechazo de trasplantes, afecciones causadas por trastornos vasculares, enfermedades causadas por lesiones cardiovasculares hemorrágicas o isquémicas, isquemia, infarto de miocardio y hemorragia conducentes a daños en tejidos, insuficiencia cardíaca, renal, respiratoria o hepática, cáncer, tumores y neoplasias malignas y benignas, en animales, más particularmente seres humanos.

65

En el presente documento también se describen métodos para inducir la regeneración celular, la regeneración de tejidos, la regeneración de órganos y la regeneración de los sistemas orgánicos, tales como el sistema circulatorio, sistema nervioso y sistema endocrino.

5 Por último, en el presente documento se describen métodos para la renovación de la respuesta inmunitaria en un animal, particularmente en seres humanos.

DEFINICIONES

10 En el contexto de esta solicitud de patente se utilizan varias veces abreviaturas cuyas definiciones conforme a su empleo en esta solicitud se resumen a continuación:

- BCG se refiere a *Mycobacterium bovis* atenuado, bacilo de Calmette-Guerin;
- 15 • DAMPS se refiere a los patrones moleculares asociados a peligro;
- DECA se refiere a la composición 1 descrita en el Ejemplo 1 de la presente solicitud de patente;
- GM-CSF se refiere a "Granulocyte macrophage colony-stimulating factor";
- 20 • IL12 se refiere a interleucina-12;
- IL15 se refiere a interleucina-15;
- 25 • IL2 se refiere a interleucina-2;
- IL21 se refiere a interleucina-21;
- IL4 se refiere a interleucina-4;
- 30 • IL5 se refiere a interleucina-5;
- IL7 se refiere a interleucina-7;
- 35 • PAMPS refiere a patrones moleculares asociados a patógenos.
- PFU: unidades formadoras de placa de lisis.
- PPD se refiere a derivado proteico purificado de bacilo de Koch;
- 40 • PPD se refiere a la fracción proteica purificada del extracto de de cultivo de bacilo de Koch ("Derivado proteico purificado"). El PPD representa los principales antígenos del *Mycobacterium tuberculosis*;
- TCID50 es una unidad para la cuantificación de partículas virales y representa la dosis infectante en el 50 % de las células en un cultivo de tejido;
- 45 • Turberculina de Koch se refiere al lisado inactivado de *Mycobacterium bovis*;
- Unidades de Lf o "Unidades de floculación" es la unidad internacional para cuantificar antígenos en las vacunas de toxoides aceptada por la Organización Mundial de la Salud;
- 50

Descripción de las figuras

Las figuras a continuación hacen parte del presente informe y se incluyen para ilustrar ciertos aspectos de la invención. El objeto de la presente invención se puede entender mejor por referencia a una o más de estas figuras, en combinación con la descripción detallada de la modalidad preferida que aquí se presenta.

- La figura 1 muestra el efecto del tratamiento con DECA, DECA + IL2 sobre el crecimiento tumoral *in vivo*. Células de melanoma murino (B16F10) se inocularon en el día cero (1×10^6 , 100 μ l / animal) por vía subcutánea (s.c.) en el dorso de ratones C57B16 macho. El volumen del tumor (A) (en mm^3) se midió cada tres días con la ayuda de un calibre digital. El porcentaje de crecimiento calculado (B) en relación al volumen de cada tumor medido en el séptimo día. Los resultados fueron expresados como media \pm error estándar de la media (SEM). * $p < 0,05$ representa la diferencia estadísticamente significativa en comparación con el grupo control (ANOVA de una vía, post-hoc: prueba de Dunnett). $n = 9-10$ animales.
- 60
- 65

- 5 • La figura 2 muestra el efecto del tratamiento con DECA, y DECA + IL2 en la supervivencia de los animales inoculados con células de melanoma murino. Células B16F10 fueron inoculadas en el día cero (1×10^6 , 100 μ l / animal) por vía subcutánea (s.c.) en el dorso de ratones C57B16 macho. El gráfico representa la curva de mortalidad y los porcentajes representan los animales que permanecieron vivos a los 30 días después de la inoculación de células tumorales. n = 9-10 animales. * p,0,05 (p = 0,0361), Análisis estadístico: Logrank Test - Chi cuadrado.
- 10 • La figura 3 muestran exámenes anatomopatológicos de la voluntaria MBS. A muestra el examen pre-tratamiento inmunoterapéutico, la flecha negra indica la región del tumor y la flecha blanca ausencia de infiltrado inflamatorio. La región delimitada en negro muestra la inhibición del sistema inmunológico por el tumor constatada por la ausencia de infiltrado inflamatorio. B. Examen postratamiento inmunológico, donde se constata la eliminación completa del tumor, las flechas blancas indican el denso infiltrado inflamatorio y el área delimitada en negro ejemplifica áreas de fibrosis y alteraciones reparadoras permeadas por infiltrados inflamatorios. C. Recontextualización del sistema inmunológico mediante la utilización de la presente invención, atestiguada por la reacción positiva a S-100 en un sinnúmero de células dendríticas intra-epidérmicas (indicadas por flechas) y en medio del infiltrado inflamatorio dérmico extendiéndose hasta la dermis profunda sin células melanocíticas o melanoma residual.
- 15 • La figura 4 muestra exámenes anatomopatológicos del voluntario PPC. A. Examen pretratamiento inmunoterapéutico evidenciando el área de melanoma metastásico agresivo con algunas células pigmentadas, y escaso y discreto infiltrado inflamatorio periférico indicado por la flecha, mostrando la inhibición del sistema inmunológico por el tumor. B. Examen post-tratamiento inmunológico que ilustra la desaparición del tumor y la sustitución por un intenso y denso infiltrado inflamatorio. C. Recontextualización del sistema inmunológico mediante el tratamiento con la presente invención, atestiguada por la reacción positiva a S-100 en un sinnúmero de células dendríticas intraepidérmicas (indicado por flechas) y en medio del infiltrado inflamatorio dérmico extendiéndose hasta la dermis profunda, sin melanoma residual.
- 20 • La figura 5 muestra los exámenes de Resonancia Magnética Nuclear (A1, A2 y A3 de 30/07/2008 pretratamiento inmunológico) y tomografías computarizada (B1, B2, B3 postratamiento 13/05/2009, C1 y C3 postratamiento de 30/08/2011 y C2 postratamiento de 13/04/2010) del paciente R - M. A1. El engrosamiento de la grasa muestra carcinomatosis (flecha). A2 muestra el conglomerado de ganglios linfáticos del tronco celíaco (flecha; mayores de medición 3,7 cm). A3 Conglomerado de ganglios linfáticos del ligamento hepatogástrico midiendo 4 cm (flecha). B1 Desaparición de la carcinomatosis, por que muestra la desaparición del engrosamiento de la grasa (flecha). B2 Reducción del ganglio de mayor tamaño (3,7 cm a 1,4 cm) en el grupo de los ganglios linfáticos del tronco celíaco (flecha). B3 Desaparición del conglomerado de ganglios linfáticos del ligamento hepatogástrico (flecha). C1 Desaparición de la carcinomatosis (flecha). C2 Reducción del ganglio de mayor tamaño (1,4 cm a 1,1 cm) en el grupo de los ganglios linfáticos del tronco celíaco (flecha). C3 Confirmación de la desaparición de conglomerado de ganglios linfáticos del ligamento hepatogástrico (flecha). Estos datos muestran una remisión oncológica completa de la carcinomatosis peritoneal maligna y la diseminación linfática de cáncer gástrico con la combinación de inmunoterapia con la presente invención asociada a radio y quimioterapia paliativas.
- 25 • La figura 6 muestran tomografías computadorizadas de tórax y abdomen de la Voluntaria A-D. A muestra el examen pretratamiento inmunoterapéutico realizado el 09/10/2006 identificando los tumores en las áreas indicadas con círculos. B Examen de 11/12/2006 postratamiento inmunológico evidenciando la ausencia de estos tumores en las áreas analizadas.
- 30 • La figura 7 muestra exámenes de niveles séricos de antígeno prostático específico (PSA) del paciente O-S. El primer punto se refiere al valor residual del marcador evidenciando presencia de de célula neoplásica residual de cirugía no curativa, que al ser tratado inmunológicamente se hizo indetectable (trazado como cero) en 4 semanas. Este dato sugiere fuertemente que el tratamiento inmunoterapéutico, usado como monoterapia farmacológica en cuanto se aguardaba el inicio de la radioterapia, fue eficaz en la remisión completa del tumor locorregional y erradicación de la masa tumoral, una vez que el estado actual de la técnica no permite diferenciar la erradicación completa de la masa tumoral de enfermedad residual mínima.

55 Descripción detallada de la invención

Descripción de composiciones inmunogénicas

60 La presente invención se define en las reivindicaciones y se refiere a composiciones inmunogénicas para su uso en terapia (mediante modulación del sistema inmunológico) que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de diez agentes antigénicos inmunoactivos que presentan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS) y/o patrones moleculares asociados a peligro (DAMPS) y junto con los vehículos, excipientes, diluyentes o disolventes fisiológicamente aceptables como se define en las reivindicaciones.

65 Las composiciones de la presente invención comprenden agentes antigénicos inmunoactivos como se define en las reivindicaciones que presentan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS) y/o patrones moleculares

asociados a peligro (DAMPS) seleccionados de entre el grupo que consiste en: (A) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a bacterias, (B) agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a hongos y levaduras.

5 Los agentes antigénicos de la presente invención se definen en las reivindicaciones. Los gantes antigénicos se pueden obtener mediante purificación de fragmentos aislados de materiales existentes en la naturaleza o derivados de fracciones de extractos vegetales, animales o microbiológicos, o incluso producidos por recombinación genética, siendo preferiblemente derivados de cepas virales, fúngicas, parasitarias, priónicas o bacterianas.

10 Así, los agentes antigénicos de la presente invención con patrones moleculares asociados a bacterias de la presente invención comprenden agentes antigénicos (como se define en las reivindicaciones) con patrones moleculares asociados a las bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Escherichia* y *Salmonella*.

15 Los agentes antigénicos con patrones moleculares asociados a hongos y levaduras de la presente invención comprenden agentes antigénicos (como se define en las reivindicaciones) con patrones moleculares asociados a levaduras del género *Candida*.

20 Más específicamente los agentes antigénicos de la presente invención comprenden moléculas proteicas antigénicas inmunoactivas que tienen actividad enzimática, como por ejemplo, quinasas, fosfatasa, streptoquinasas, estreptodornasas y desoxirribonucleasas (por ejemplo, dornasas).

Las composiciones inmunogénicas de la presente invención comprenden cantidades en microgramos por ml de cada agente inmunogénico como se define en las reivindicaciones.

25 Tales agentes inmunogénicos se pueden encapsular en cápsulas, micropartículas, nanopartículas, comprimidos recubiertos, o liposomas.

30 La composición inmunogénica de la invención comprende lisado inactivado de *Mycobacterium bovis*, derivado proteico purificado de bacilo de Koch (PPD), lisado inactivado de *Staphylococcus aureus*, lisado inactivado de *Staphylococcus epidermidis*, lisado inactivado de *Streptococcus pyogenes*, lisado inactivado de *Streptococcus pneumoniae*, lisado inactivado de *Enterococcus faecalis*, estreptoquinasa / dornasa, lisado inactivado de *Candida albicans*, lisado inactivado de *Candida glabrata*, lisado inactivado de *Epidermophyton floccosum*, lisado inactivado de *Microsporium canis*, lisado inactivado de *Trichophyton mentagrophytes* variedad *interdigitale*, lisado inactivado de *Escherichia coli* enteropatogénica, lisado inactivado de *Salmonella bongori*, lisado inactivado de *Salmonella enterica* y lisado inactivado de *Salmonella subterranea*, en las cantidades definidas en las reivindicaciones.

35 Una composición inmunogénica particular puede comprender de 0,001 a 1 ng/ml delisado inactivado de *Mycobacterium bovis*, 0,001 a 1 ng/ml de derivado proteico purificado de bacilo de Koch (PPD), 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Staphylococcus aureus*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Staphylococcus epidermidis*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Streptococcus pyogenes*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Streptococcus pneumoniae*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Enterococcus faecalis*, 0,1 a 10 µg/ml de estreptoquinasa, 0,1 a 10 µg/ml de dornasa, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Candida albicans*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Candida glabrata*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Epidermophyton floccosum*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Microsporium canis*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Trichophyton mentagrophytes* variedad *interdigitale*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Escherichia coli* enteropatogénica, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Salmonella bongori*, 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Salmonella enterica* y 0,1 a 100 µg/ml de lisado inactivado de *Salmonella subterranea*. Las composiciones inmunogénicas de la invención comprenden cantidades pequeñas de cada uno de estos agentes antigénicos, como se define en las reivindicaciones, que entran dentro de los intervalos mencionados anteriormente. Además, con el fin de aumentar, disminuir o polarizar la respuesta inmunitaria conforme al objetivo de la inmunoterapia, la composición antigénica de la presente invención para su uso en terapia comprende IL2. Las composiciones de la presente invención comprenden además 7,5 mg/ml de cloruro sódico, 0,48 mg/ml de fosfato sódico dibásico heptahidrato, 0,06 mg/ml de fosfato porásico monobásico, 2,5 mg/ml de fenol y agua. Las composiciones de la presente invención pueden ser un sólido, líquido o gel.

40 Conforme usado en la presente invención, el uso del término "vehículo farmacéuticamente aceptable" significa un sólido no tóxico, inerte, excipiente, líquido, semi-sólido, diluyente, formulación auxiliar de cualquier tipo, o simplemente un medio acuoso estéril tal como una solución salina. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables son azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa, almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata, celulosa y sus derivados tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; ciclodextrina; aceites tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja, glicoles tales como propilenglicol, poliésteres, tales como glicerol, sorbitol, manitol y polietileno; ésteres, tales como laurato de etilo, oleato de etilo, agar; agentes tamponantes tales como hidróxido de aluminio e hidróxido de magnesio, ácido algínico, agua libre de pirógenos, solución salina isotónica, solución de Ringer, soluciones tampón de alcohol etílico y fosfato, así como otras sustancias compatibles no tóxicas utilizadas en formulaciones farmacéuticas.

Está disponible una variedad de vías de administración en animales o seres humanos de las composiciones inmunoterapéuticas y vacunas descritas en la presente invención. El modo particular seleccionado dependerá de los agentes antigénicos seleccionados, la dosificación requerida para la eficacia terapéutica y el paciente al que será administrada la composición. Los métodos de la presente invención generalmente pueden ser practicados utilizando cualquier modo de administración biológicamente aceptable, es decir, cualquier medio que produzca niveles eficaces de respuesta inmunitaria sin causar reacciones clínicamente adversas. Tales modos de administración incluyen las vías intradérmica, oral, rectal, sublingual, tópica, nasal, transdérmica o parenteral. El término "parenteral" incluye subcutánea, intravenosa, epidural, irrigación, intramuscular, bombas de infusión o de liberación. En particular, en esta invención las vías oral, intradérmica, parenteral, subcutánea, intravenosa, intramuscular, y, por la mucosa nasal y/o la administración oral son preferidas para la administración de las composiciones reivindicadas en este documento, aunque los procedimientos de tratamiento practicados en el cuerpo humano o animal no forman parte de la invención reivindicada.

Para la administración parenteral, los ingredientes activos también se pueden disolver en un vehículo farmacéutico y administrarse como una solución, como una emulsión, incluyendo micro-y nanoemulsiones o como una suspensión. Ejemplos de vehículos adecuados son agua, solución salina, soluciones de dextrosa, soluciones de fructosa, o de aceites de origen animal, vegetal o sintético. Otros vehículos también pueden contener otros ingredientes, por ejemplo, conservantes, agentes de suspensión, agentes solubilizantes, tampones y similares.

Propiedades de las composiciones inmunogénicas de la presente invención

Las composiciones inmunogénicas de la presente invención tienen un efecto inesperado en la respuesta inmunitaria. Como podrá verse en los Ejemplos a continuación, las composiciones inmunogénicas de la presente invención presentan el efecto técnico inesperado de causar una respuesta inmunitaria que implica la recontextualización, reprogramación y reconducción de la respuesta inmunitaria en tiempo real.

Más específicamente, las composiciones inmunoterapéuticas de la presente invención son capaces de provocar una recontextualización de la capacidad de actuación operacional del sistema inmunitario, alterando en su favor la relación de fuerzas en contra de los agresores, dando al sistema inmunológico una ventaja competitiva, lo que no ocurre espontáneamente en la evolución de las enfermedades. Esta recontextualización determina una consecuente reprogramación y reconducción de la respuesta inmunitaria establecida o incipientemente establecida, o establecida erróneamente agrediendo por error el cuerpo humano o animal, polarizándola hacia una respuesta inmunitaria apropiada, primaria o secundaria activa o inhibitoria, más eficaz.

Este efecto se produce, a través de la estimulación, la activación y la acción conjunta de ciertos componentes del sistema inmunológico, tales como las células centinela, las células centinela presentadoras de antígenos y los linfocitos de memoria. Específicamente, las composiciones de la presente invención activan correctamente células centinela, células dendríticas y otras células CPA generando el grado y la intensidad de la activación de células T CD4 y el grado y la intensidad del perfil inmunológico para combatir la infección, infestación o enfermedad neoplásica.

En consecuencia, las composiciones antigénicas inmunomoduladoras de la presente invención, administradas en cantidades mayores o significativa, desencadenan una respuesta inmunitaria adaptativa específica activa, deseada para combatir infecciones bacterianas, virales o parasitarias en la lucha contra neoplasias, cáncer y tumores.

Además, el tratamiento con las composiciones inmunogénicas de la presente invención es capaz de estimular el poder de regeneración del sistema inmunológico, proporcionando un efecto posterior a la eliminación de las enfermedades infecciosas y otras enfermedades: recuperar células y tejidos, restaurando las funciones de órgano debilitado por traumas y otros daños que generan la pérdida de parte del organismo.

Así, las composiciones inmunogénicas de la presente invención son capaces de movilizar el sistema inmunológico y conducir a un aumento del poder de regeneración del cuerpo, a través de la movilización de las células madre o de la activación de los conjuntos de genes que permiten la regeneración de células y tejidos, pudiendo hasta reconstituir órganos y sus funciones y pudiendo reconstituir sistemas de órganos, tales como el sistema vascular, tales como el sistema nervioso y el sistema endocrino entre otros.

Como podrá verse en los Ejemplos presentados a continuación, las composiciones inmunogénicas de la presente invención exhiben un efecto técnico inesperado de recontextualización, reprogramación y reconducción de la respuesta inmunitaria en tiempo real y consecuentemente tasas de curación significativas en comparación con medicamentos y metodologías en el estado de la técnica.

En una primera realización de la invención, una concentración determinada de agente(s) inmunomodulador(e)s se utiliza para preparar una composición farmacéutica inmunoterapéutica capaz de inducir una respuesta inmunitaria innata, que desencadena una cascada de eventos inmunes, incluyendo la activación de linfocitos de memoria a partir del (de los) agente(s) inoculado(s) por intervención humana y la activación concomitante por antígenos presentes en el propio cuerpo del paciente, lo que resulta en la recontextualización, reprogramación y reconducción

- de la respuesta inmunitaria en curso a una determinada enfermedad establecida (o todavía en fase de establecimiento), generando una respuesta adaptativa específica efectiva para esta enfermedad, posibilitando la lucha contra el patógeno. Es decir, la administración de la composición conteniendo los agentes de la presente invención repolarizan, o mejoran la polarización del sistema inmunológico en la presencia de una enfermedad cuando la polarización ese momento se hubiera establecido inadecuadamente, por la acción del agente etiológico o colonizador. La actuación de los agentes de la presente invención alteran la forma, el tiempo, la precisión y la polarización de la respuesta inmunitaria, preferiblemente conduciendo a una respuesta innata y/o adaptativa específica más eficaz para combatir la enfermedad, conduciendo a una mejor reacción del propio organismo.
- La presente invención proporciona una manera de combatir estos tipos de agresiones heterólogas (infecciones e infestaciones) y autólogas (neoplasmas) mediante el uso de las combinaciones antigénicas descritas. La presente invención también prevé la posibilidad de agregar terapias tradicionales a los agentes de esta invención, auxiliando el proceso de eliminación de los agentes etiológicos invasores heterólogas y las células colonizadoras autólogas a través del potencial terapéutico real de antimicrobianos y antineoplásicos y otros fármacos selectivos para los patógenos y otros agentes etiológicos. Esto se hace posible por el principio del desplazamiento del equilibrio biológico en favor de la paciente en combinación con una polarización correcta de la respuesta inmunitaria conforme descrito en la presente invención.
- Cuando la estimulación inmunológica es posterior a una situación de respuesta inmunitaria, después de la terminación del mecanismo de la enfermedad o la agresión, la continuación de la activación del sistema inmunológico por los antígenos o agentes inmunomoduladores de la presente invención lleva, por la activación de las células madre, a la regeneración de los tejidos, órganos y sistemas, por mecanismos aún no comprendidos completamente, relacionados con mecanismos de cicatrización o *restitutio ad integrum* observados en diversas situaciones médicas.
- Las composiciones de la presente invención permiten reclutar el máximo de células de memoria y vírgenes del individuo, produciendo efectos más significativos que un aumento de anticuerpos conforme descrito en el estado de la técnica. El uso de múltiples agentes antigénicos con PAMPS y DAMPS suficientemente distintos como para simular los diferentes tipos de ataques que sufre el organismo y para los cuales el organismo ya posee memoria inmunológica, sea por exposición ambiental o por programas de vacunación, permite reclutamiento mucho más amplio de células de memoria, y células vírgenes, lo que permite recontextualizar en tiempo real el tipo de respuesta inmunitaria y así potencializar de manera radical el tipo de respuesta inmunitaria y la progresión de la dolencia o enfermedad que afecta al individuo de una manera positiva y, en varios casos, de manera sorprendente en comparación con la técnica anterior. Además, la presente invención, a diferencia de la técnica anterior, aplica una mayor cantidad de componentes bacterianos, y con representantes de bacterias intracelulares y extracelulares en la composición, además de componentes de virus, parásitos, hongos y levaduras. Hayashi et al no exploraron una mayor diversificación en su composición para obtener una potencialmente mayor. El proceso de aplicación de los agentes antigénicos también fue diferente, dado que la presente invención abarca la exposición de muchas más áreas del cuerpo y los tejidos con células CPA, y, preferiblemente, buscando una exposición en local próximo a la infección o localidad y otras aplicaciones distales del la ubicación de la enfermedad (cuando es el caso en dolencias o enfermedades que se manifiestan de forma localizada en el cuerpo). Las composiciones de la presente invención, cuando aplicadas de acuerdo con el proceso de utilización de la presente invención en un o, por lo general, en diversos lugares estratégicos del cuerpo drenados por territorios o órganos linfoides primarios y/o secundarios o incluso intralesionales, son percibidas por todos los RPPs (receptores de patrones asociados a patógenos) de todas las células centinelas del cuerpo.
- En un primer grupo de condiciones de agresión o peligro real, en que el sistema inmunológico está siendo extemporáneamente abrumado, paralizado o superado por bacterias, hongos, virus, priones, parásitos u otros microorganismos o macroorganismos, uni o pluricelulares, (agresión heteróloga) o por una neoplasia benigna o maligna (agresión autóloga), la modificación de su estado de preparación, se da en el estado de activación y en la movilización de su aparato celular y molecular de la inmunidad innata y adaptativa, que integradas son capaces de revertir la situación de desventaja competitiva en que el sistema inmunológico y el cuerpo se encuentran.
- En un segundo grupo de condiciones de agresión donde el peligro real procede del propio sistema inmunológico, o sea, cuando él mismo está atacando el cuerpo humano o animal, o en una enfermedad autoinmune o alérgica, la recontextualización del sistema inmunológico tiene lugar en su estado de preparación para ser capaz de inhibir esta acción perjudicial. La presente invención induce al sistema inmunológico a suprimir su estado de activación y desmovilizar los mecanismos efectores de memoria que mantienen la agresión. Este efecto se consigue mediante la movilización del aparato celular y molecular de la inmunidad innata y adaptativa responsable de la supresión y regulación de la respuesta inmunitaria y el retorno al equilibrio conocido como homeostasis o normalidad.
- En un tercer grupo de condiciones, donde el sistema inmunológico lidia con las consecuencias de agresiones tisulares, orgánicas o sistémicas derivado de múltiples causas, heterólogas o autólogas o incluso traumáticas, la acción del sistema inmunológico se da en la reparación de los daños que estos ataques. En este caso, la modificación del estado de preparación o la movilización del sistema inmunológico tiene lugar a través de la movilización de las células tronco del propio sistema inmunológico o de otros sistemas celulares, autólogos,

allogénicos o heterólogos, o también por la activación de los conjuntos de genes presentes en las células del propio paciente.

De esta forma, la presente invención emplea agentes inmunomoduladores en cantidades, concentraciones y ubicaciones específicas para recontextualizar el sistema inmunológico activando y reconduciendo los mecanismos para la regeneración y reparación de tejidos, como ocurre durante cicatrización y la regeneración de un tejido, órgano o sistema, dando lugar a una "*restitutio ad integrum*" o a la reconstitución con cicatriz. Esta reparación generalmente se desencadena al final del proceso de una respuesta inmunitaria después de la curación de un traumatismo, una infección, una enfermedad tumoral o una enfermedad alérgica o autoinmune.

Composiciones inmunogénicas de la presente invención para su uso en terapia

Teniendo en cuenta las propiedades de las composiciones inmunogénicas de la presente invención, son para uso en terapia.

Las enfermedades infecciosas pueden ser de origen viral, bacteriano, fúngico o parasitario.

Las enfermedades de origen viral pueden estar causadas por los siguientes virus, pero sin limitaciones:

VIH, virus de la hepatitis, virus del herpes, rabdovirus, virus de la rubéola, virus de la viruela, *poxvirus* y *paramixovirus Morbillivirus*.

Las enfermedades de origen bacteriano pueden estar causadas por las siguientes bacterias, pero sin limitaciones: *Pneumococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, Meningococcus, Gonococcus, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Haemophilus*, *Yersinia*, *Listeria*, *Corynebacterium*, *Vibrio*, Clostridia, *Chlamydia*, *Mycobacterium*, *Treponema* y *Helicobacter*.

Las enfermedades fúngicas pueden estar causadas por, pero no limitado a, los siguientes hongos: *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus neoformans*, y/o hongos causantes de micosis superficiales y profundas. Las enfermedades causadas por parásitos están causadas por, pero no limitado a, los siguientes parásitos: *Trypanosoma*, *Schistosoma*, *Leishmania*, amebas y solitaria.

Otras enfermedades incluyen lupus eritematoso y localizado, artritis reumatoide, poliarteritis nodosa, polimiositis y dematomiositis progresiva, esclerosis sistémica progresiva, la esclerodermia difusa, glomerulonefritis, miastenia grave, síndrome de Sjogren, enfermedad de Hashimoto, enfermedad de Graves, adrenalitis, hipoparatiroidismo, anemia perniciosa, diabetes, esclerosis múltiple, enfermedades dismielinizantes, uveítis, pénfigo, cirrosis penfigoide, colitis ulcerosa, miocarditis, enteritis regional, síndrome de dificultad respiratoria en adultos, manifestaciones locales de reacciones a fármacos, dermatitis atópica, eccema infantil, dermatitis de contacto, psoriasis, liquen plano, enteropatías alérgicas, asma bronquial, rechazo de trasplantes, dolencias post-estreptocócicas como manifestaciones cardíacas, renales y articulares de fiebre reumática y otras manifestaciones relacionadas, múltiples y diversas formas de cáncer, tales como carcinomas, adenocarcinomas, melanomas, sarcomas, astrocitomas malignos, hepatomas, hipernefomas, linfomas y melanomas, entre otros.

Otras enfermedades incluyen cáncer, colonización autóloga por células tumorales benignas y/o malignas, en todas las formas de cáncer, conocidas como carcinomas, adenomas, adenocarcinoma, hepatoma, astrocitomas y otras neoplasias del sistema nervioso central y periférico, melanomas, sarcomas, linfomas y leucemias y todos los tumores benignos.

Aún enfermedades adicionales incluyen enfermedades que producen isautonomía del sistema inmunológico (ya citado anteriormente), tales como lupus eritematoso, artritis reumatoide, poliarteritis nodosa, polimiositis y dematomiositis e esclerosis sistémica progresiva (esclerodermia difusa), glomerulonefritis, miastenia grave, síndrome de Sjogren, enfermedad de Hashimoto (hipotiroidismo), enfermedad de Graves (hipertiroidismo), adrenalitis, hipoparatiroidismo, anemia perniciosa, diabetes, esclerosis múltiple, e enfermedades desmineralizantes correlatas o relacionadas, uveítis, pénfigo y cirrosis penfigoide, colitis ulcerosa, miocarditis, enteritis regional, síndrome de dificultad respiratoria en adultos (adult respiratory distress syndrome), manifestaciones locales y sistémicas de reacciones a fármacos, tales como farmacodermias y dermatitis, entre otras.

Todavía en el campo de enfermedades de disautonomía del sistema inmunológico, pueden incluir accidentes vasculares arteriales y venosos, en dolencia tales como infarto de miocardio, fenómenos trombo embólicos de pulmón, de cerebro y digestivo o cualquier otra área del cuerpo donde el accidente vascular conduce a la isquemia o hemorragia, con consecuencia de necrosis o atrofia de estos segmentos, tales como, pero no limitados a, todo el sistema músculo-esquelético, todo el sistema nervioso central y periférico, con consecuencia de oclusión del suministro sanguíneo y dan lugar a infartos cardíacos y lesiones cerebrales. De esta forma, la inmunoterapia de la presente invención exhibe una acción antiinflamatoria e de aumento de la inmunidad que puede conducir al bloqueo de procesos inflamatorios importantes para el establecimiento de dolencias tales como: síndrome metabólico, obesidad, diabetes de tipo 2, aterosclerosis, hígado graso alcohólico, hígado graso no alcohólico, hipertensión, insuficiencia renal, síndrome pos-trombótica, pos-tromboflebitis y cualquier otra dolencia derivada de una reacción inflamatoria del sistema inmunológico.

En el caso de enfermedades alérgicas, autoinmunes e inflamatorias, estas incluyen inflamación asociada o causada por reacciones alérgicas de la piel, eccema atópico infantil; dermatitis de contacto en el asma, asma bronquial, bronquiolitis y bronquitis alérgica, rinitis alérgica, enteritis alérgica; enteropatía alérgica; procesos inflamatorios pseudo-tumorales de origen actualmente desconocido; psoriasis (pseudo tumor inflamatorio); liquen plano, rechazo de trasplantes de corazón, hígado, pulmón, riñón, islotes pancreáticos y otros; hipersensibilidad o respuestas inmunes destructivas frente a agentes infecciosos, afecciones post-estreptocócicas, tales como cardíacas, renal, miocarditis, pericarditis o fiebre reumática; y equivalentes por otros agentes etiológicos, no limitadas por las formas de estas manifestaciones. En el caso de las enfermedades autoinmunes y alérgicas, las concentraciones y las dosis son preferiblemente mucho menores, actúa en la activación incompleta de las células inmunes, de memoria o no, pudiendo englobar, pero sin limitarse a las enfermedades mencionadas anteriormente.

En un ejemplo, las composiciones de la presente invención se administran una sola vez, en una sola zona del organismo o en diferentes zonas a fin de reconducir el sistema inmunológico con la mayor eficacia posible. El uso de las composiciones inmunogénicas de la presente invención para la modulación del sistema inmunológico, implicando la exposición de parte o la totalidad del sistema para el reconocimiento de antígenos del sistema inmunológico, tales como las células dendríticas, los ganglios linfáticos y los macrófagos de diferentes partes del cuerpo dependerá del objetivo impuesto por la enfermedad enfrentada, y se realiza preferentemente por medio de inyecciones o el uso de pistolas, o sistemas de liberación o infusión controlada o células pulsadas *in vitro* con antígenos. El agente puede ser aplicado en una sola ubicación en el organismo o en varias decenas de ubicaciones de forma subcutánea, muscular, intravenosa, oral, por aerosol respirable, cutánea (parches dérmicos), en órganos, vísceras o tejidos específicos, o en diferentes cavidades del cuerpo, en número que puede variar de una a cien (100) aplicaciones en un una a cincuenta (50) sesiones.

En particular, con el fin de aumentar, disminuir o polarizar la respuesta inmunitaria conforme al objetivo de la inmunoterapia las composiciones antigénicas de la presente invención pueden usarse junto con la terapia con IL2.

Recontextualización, renovación y reprogramación de la respuesta inmunitaria.

La recontextualización del sistema inmunológico, como se explica en el texto de la presente solicitud de patente, se realiza por medio de la estimulación del sistema inmunológico por antígenos de diferentes patógenos, no relacionados con la patología siendo tratada, para los que el ser humano o animal, preferentemente ya tenga una memoria inmunológica.

Estos múltiples y variados antígenos en número superior a cinco, con múltiples PAMP y DAMP deben provocar en las células centinelas y células CPA, principalmente en las células dendríticas, una activación intensa que permita la movilización de los linfocitos T CD4 de memoria específicos de estos antígenos en el punto de aplicación.

Estos estímulos deben ser capaces de provocar una respuesta inmunitaria específica secundaria intensa, fuerte y eficaz a estos antígenos en el local de aplicación, en los ganglios linfáticos local y regionales, en los ganglios linfáticos a distancia y una movilización sistémica del sistema inmunológico de manera que pueda, en paralelo, provocar una respuesta eficaz específica capaz de erradicar la patología en curso.

La respuesta inmunitaria innata y adaptativa provocada intencionalmente por la composición de la presente invención debe comprender la extensión total de la zona del cuerpo afectada por la patología siendo tratada e incluso superarla, si es posible, para ser capaz de activar las células centinelas y CPA en el número y la intensidad que sería necesario para que éstas consigan dimensionar adecuadamente la agresión causada por la enfermedad patógena siendo tratada, activando y provocando la mejor respuesta específica adaptativa, eficaz y correctamente polarizada de forma secuencial con el fin de curar la patología que se está tratando.

De este modo, la respuesta innata y adaptativa inducida por la presente invención, se superpondrá geográficamente a la patología que se está tratando y por su intensa y extensa activación corregirá la activación ineficiente, limitada a propósito por la acción del patógeno, que está venciendo las defensas del organismo, impidiendo por la competencia, su adecuada movilización y la elaboración de una respuesta adaptativa efectiva en función de su mayor potencial genético y biológico. Esta activación ideal también deberá invertir la inmunosupresión, la tolerancia y los mecanismos de escape establecidos por patógenos, ya que es conocido y demostrado que una respuesta inmunitaria fuerte e intensa no relacionada, que cubre completamente la respuesta a ser corregida, por medio de las células activadas y citocinas del sistema inmunológico, corrigen estas situaciones de deficiencia de manera eficiente.

Las células efectoras y las memorias específicas de antígenos de la presente invención, activadas y generadas en el lugar de aplicación de los antígenos, llegarán a los ganglios linfáticos ya activados por vía sanguínea, que drenan la región afectada por la enfermedad y activarán de manera fuerte e intensa todas las células dendríticas allí existentes. De este modo, dará lugar a una activación de todo el ganglio linfático, haciéndolo crecer con el aumento de la irrigación, aumentando su tamaño y convirtiéndolo en un ganglio linfático de reacción capaz de provocar una respuesta inmunitaria contra antígenos débiles, que por sí mismos no son capaces de causar una respuesta inmunitaria. Este efecto adyuvante, bien conocido y demostrado experimentalmente y clínicamente, de los linfocitos T efectoras / de memoria se contrapondrá a la acción del agente etiológico diana, que está bloqueando la activación

necesaria del nodo, para la elaboración de la respuesta inmunitaria requerida para luchar contra enfermedad en cuestión.

5 Que, exclusivamente por el propósito y por la acción de la presente invención a través de su potente composición antigénica, puede ocurrir que las células centinela y las células dendríticas y los macrófagos de la respuesta inmunitaria serán las mismas para los antígenos no relacionados y para los antígenos patológicos, que sin embargo a partir de esta acción estarán intensa y correctamente activadas. Las células dendríticas intensamente activadas por antígenos múltiples, tendrán un metabolismo lento y exhibirán idealmente todos los epítodos dominante y subdominante del agente etiológico, por el conocido efecto "helper", movilizándolo todos los posibles y disponibles linfocitos T capaces de reconocer específicamente los antígenos del patógeno autólogo o heterólogo siendo tratado y de reaccionar contra él.

15 -Que el área de la inflamación y los territorios linfáticos sean exactamente los mismos. El área inflamada, por la conocida acción antiinflamatoria de las células de memoria específicas, no relacionadas, movilizadas por la presente invención por medio de su composición antigénica, bloquearán los inflamasomas y ejercerán una acción antiinflamatoria que corregirá la inflamación patológica responsable por la morbilidad de la enfermedad y que fue causada por su agente etiológico. Para el efecto memoria es importante tener en cuenta que esta conocida acción de las células T de memoria es una de las principales responsables porque el segundo contacto con cualquier agente patológico, para el que ya esté establecida una inmunidad, se produzca de manera completamente asintomático sin causar una enfermedad.

25 Que los territorios linfáticos sean exactamente los mismos, sólo que ahora intensamente activados y con la señal de alarma necesaria, dada por la presente invención para provocar una respuesta inmunitaria, incluso para un antígeno débil, similar a lo que ocurre con las células dendríticas comunes a esta invención y al agente etiológico autólogo o heterólogo siendo combatido. Las linfocinas y células innatas que comandan una respuesta secundaria efectiva serán las mismas y los linfocitos T específicos contra el agente etiológico siendo combatido se aprovecharán de este microambiente ideal para la realización de una respuesta inmunitaria efectiva

30 Que de esta manera las células dendríticas activadas por la presente invención, puedan capturar los antígenos del agente etiológico siendo combatido en el local de la patología y en los territorios linfáticos concernidos y poder estar en contacto con los linfocitos T CD4 específicos del agente patológico en un sistema linfático correcta e idealmente activado. La actuación de las células dendríticas activadas y maduras con los linfocitos T CD4 específicos del agente etiológico se producirá en un microambiente favorable para la realización de una respuesta inmunitaria, con todo el potencial genético y biológico del sistema inmunológico del organismo hospedador.

35 Estas células dendríticas en el local de la patología y en los ganglios linfáticos dimensionarán correctamente la gravedad, el alcance, la intensidad y el tipo de agresión, activando, induciendo, coordinando, polarizando, conduciendo y manteniendo una nueva respuesta inmunitaria adaptativa eficaz, cuyo mecanismo efector, con la colaboración de las células y moléculas efectoras de la inmunidad innata activadas intensamente y de forma adecuada podrán tener la posibilidad de eliminar el agente etiológico siendo combatido. Así, la respuesta será reprogramada y reconducida como se señaló anteriormente, revirtiendo el equilibrio biológico en beneficio del hospedador, que hasta entonces estaba bajo el yugo del agente agresor autólogo o heterólogo.

45 Esta acción podrá ocurrir con o sin la ayuda de un desplazador del equilibrio biológico como son antibióticos y antineoplásicos, capaces de bloquear, debilitar o neutralizar la acción y el potencial del agente etiológico, permitiendo que el sistema inmunológico pueda tener la oportunidad de sanar la patología diana del tratamiento. El sistema inmunológico, una vez activado por cualquier agente etiológico, sólo detiene una respuesta cuando elimina el agente etiológico o el organismo fallece, de esta manera la invención ayudará a evitar el segundo supuesto, o mejorará las condiciones del paciente si tuviera lugar una enfermedad crónica que no se pueda curar.

50 De este modo, la acción de las composiciones de la presente invención intencionadamente y estratégicamente cubre toda el área bajo la acción del agente etiológico siendo combatido. Recontextualizará el sistema inmunológico mediante la activación de PAMP y DAMP de las células centinela y CPA comunes y por la respuesta inmunitaria adaptativa secundaria específica no relacionada. Esta respuesta inmunitaria inducida intencionalmente, activará eficientemente todo el territorio linfático y el territorio orgánico afectado por el agente etiológico. En el área recontextualizada, y en su interior e dentro del contexto de una respuesta inmunitaria mayor, más fuerte, más intensa, más extensa, secundaria, antiinflamatoria, por naturaleza la respuesta inmunitaria diana será conforme a lo que ha descrito reprogramada y reconducida de manera eficiente dentro de las mayores posibilidades del hospedador, ahora con la oportunidad de revertir el equilibrio biológico en su favor.

60 Adecuación del protocolo a las características fisiopatológicas de la patología que se está tratando:

a) Las bases de la inmunoterapia contra las neoplasias.

65 Las neoplasias malignas exhiben como principal característica el dominio del microambiente, según está definido en el estudio de la presente invención y que difiere de la delimitación tradicional del mismo en el estado actual de la

técnica, que consiste en el ambiente causado por la acción de las células tumorales con las células del organismo que por dicha acción pasan a funcionar a su favor. El microambiente definido en este documento es el espacio alrededor de una célula neoplásica o un conjunto de ellas, que por medio de moléculas de la superficie y / u otras moléculas secretadas por ella pasan a dominar totalmente el ambiente a su favor.

5 En este espacio dominado, el tejido conjuntivo empieza a alimentar y nutrir estas células a través de sus elementos estructurales y de nuevos vasos destinados abastecer las células neoplásicas y su tejido de soporte. A través de moléculas de superficie y sustancias y enzimas secretadas por las células tumorales en este ambiente, éstas destruyen el tejido del que se derivan, y los tejidos sanos invadidos por ellas, que son colonizados y reemplazados. 10 Las moléculas de superficie y las secretadas bloquean completamente el sistema inmunológico inmovilizando e inactivando las células centinelas, CPA y linfocíticas induciendo la inmunosupresión no específica y específica y desactivando los ganglios linfáticos locorregionales y distantes. A través del dominio del microambiente, las células neoplásicas gracias a las enzimas y moléculas de superficie entran en los vasos sanguíneos y los vasos linfáticos, alcanzan la circulación y colonizan locales a distancia del tumor primario local y provocan metástasis a distancia 15 tanto linfáticas como hematogénicas.

Así, el dominio total del microambiente alrededor de una única célula lleva a una célula tumoral por medio de la proliferación indiscriminada, a someter patológicamente inicialmente el espacio alrededor de sí misma, su tejido de origen, las zonas adyacentes, el órgano y finalmente a través de la metástasis el organismo en su conjunto. Del mismo modo, la inmunoignorancia, la inmunosupresión y las tolerancias específicas y no específicas inducidas son en primer lugar in situ, después locales, locorregionales, orgánicas y finalmente sistémicas, dominando completamente el sistema inmunológico del cuerpo del hospedador. 20

Por lo tanto, el dominio del microambiente es el efecto estratégico, crucial y determinante producido por el potencial genómico de una célula neoplásica, que lleva a una única célula tumoral a dominar el espacio in situ, local, regional, orgánico y sistémico colonizando al hospedador y conduciendo a la muerte. 25

En suma, una inmunoterapia debe necesariamente romper el dominio del microambiente y macroambiente tumoral establecido y abarcar todos los territorios inmunológicos dominados por la neoplasia. El tratamiento de inmunoterapia también deberá cubrir los territorios linfáticos distantes de la área tumoral induciendo una recontextualización, reprogramación y reconducción del sistema inmunológico de fuera para adentro del área afectada con una fuerte inercia capaz de revertir, junto con el tratamiento locorregional (intratumoral y perilesional), la dominación tumoral. 30

La inmunoprofilaxis deberá realizarse cada 4 o 5 días, pues es el período fisiológico de generación de células supresoras que controlan la respuesta inmunitaria. Ondas sucesivas de estimulación antigénica repetida en este espacio de tiempo perennizan la respuesta inmunitaria indefinidamente perpetuando el estímulo antigénico del mismo modo en que ocurre en una infección antes de su fase de cronificación y generación de una disfunción inmune. La no generación de células supresoras y la recontextualización impiden el que las células supresoras sean dominadas por el tumor y lo protejan, oponiéndose al dominio del ambiente por el tumor. 35 40

La acción de una célula neoplásica en el campo micro y de conjuntos de ellas en macroambientes se lleva a cabo 24 horas por día y durante todo el período en el que existe la enfermedad. Por lo tanto, la inmunoterapia con el alcance, frecuencia y envergadura descritas encima deberá ser aplicada continuamente mientras haya células tumorales. Es interesante mencionar que las inmunoterapias tradicionales que provocan estímulos discontinuos, a semejanza de los protocolos de inmunización con antígenos inertes (soluble o no) o agentes atenuados, no encuentran aplicación en el contexto fisiopatológico inducido por los tumores. 45

Cualquier respuesta inmunitaria específica puede amplificarse y potenciarse de manera eficiente mediante la adición de citocinas y/o quimiocinas, preferentemente IL-2 exógena en nivel de saturación del receptor, que producirá la proliferación de células inmunes que reconocen el antígeno y, por lo tanto, tener en su superficie la expresión completa del receptor de la interleucina 2. Siendo así, sólo se amplificará la respuesta de los antígenos inducidos por la invención y los inducidos por el agente etiológico (autólogo o heterólogo). En una inmunoterapia antitumoral en la que sólo existen antígenos débiles, ésta debe ser complementada con IL-2 con el fin de obtener una respuesta inmunitaria efectiva y robusta. 50 55

Las bases de la inmunoterapia contra la septicemia, la sepsis grave y el "shock séptico"

La septicemia se define como una infección extremadamente grave, en la cual una o más bacterias o microorganismos, a partir de su punto de entrada, entran en el torrente sanguíneo y pasan a circular generalmente en grandes cantidades, estableciéndose en puntos distantes colonizando tejidos, órganos, sucesivamente, pudiendo en los casos graves afectar a la mayor parte de la superficie del cuerpo. En general, cuando la carga de microorganismos es muy grande, un gran número de bacterias, con sus productos metabólicos y tóxicos, con un sinnúmero de PAMPS y DAMPS tocando todos los también incontables RPPs y RDPs de la mayor parte de la superficie del cuerpo al mismo tiempo, mientras generan un extenso, intenso y violento proceso inflamatorio generalizado, por la liberación masiva de citocinas a partir de la traducción de todas estas señales. 60 65

5 La evolución desfavorable de la septicemia conduce a la sepsis grave, por la liberación masiva de citocinas proinflamatorias tales como TNF, IL1, IL18, IL6 y otro, que provocan un colapso inflamatorio con alteraciones hemodinámicas características, tales como hipotensión, pulso acelerado, que pueden culminar en el "shock" séptico, generalmente irreversible. La septicemia y la sepsis grave son infecciones graves con una alta morbilidad y mortalidad. En estas infecciones grave, el sistema inmunológico, a su vez, con su operatividad comprometida por las debilidades y bloqueos inducidos por las bacterias, empieza a actuar con el fin de eliminar las bacterias a cualquier coste, mediante el perfil Th17 tisular inflamatorio aumentando la inflamación de los tejidos de manera desproporcionada perjudicando el organismo.

10 En este perfil inflamatorio tisular los mecanismos efectoras de la inmunidad innata controlados por las células T CD4 causan daños y destrucción a veces masivos en los tejidos que comprometen órganos y tejidos y que exacerbaban las infecciones, llevando, por ejemplo, a insuficiencia respiratoria, en el shock pulmonar, y en el SDRA (El síndrome de dificultad respiratoria del adulto) y también a insuficiencia renal e insuficiencia orgánica múltiple.

15 Por lo tanto, en las septicemias, la sepsis grave y el shock séptico existen dos variables que estratégicamente deben ser consideradas y deben ser el objetivo de una inmunoterapia para que la misma tenga éxito. Estas dos variables son la inflamación masiva causada por la diseminación de un sinnúmero de bacterias en todo el cuerpo y su relación con las RPPs y RDPs, y la polarización para el perfil Th17 causada por la inviabilidad funcional de los perfiles Th1 y Th2. Estas variables son la piedra angular de la severidad, la gravedad, la morbilidad y la mortalidad de estas patologías.

20 Teniendo en cuenta estas dos variables, una inmunoterapia para ser eficaz en estas infecciones se debe aplicar de modo que cubra toda la superficie del cuerpo, incluyendo el mayor número de territorios linfáticos para solapar geográficamente la acción del patógeno o patógenos. Deberá también, en caso de ser posible, ser aplicada a las áreas lesionadas y la región perilesional para que en conjunto puedan causar una recontextualización generalizada que recupere por su acción la integridad del mecanismo T y produzca un amplio extenso e intenso efecto antiinflamatorio por medio de las células T efectoras / de memoria generadas en los locales de aplicación. La inmunoterapia deberá en paralelo por la recontextualización y reprogramación descritas más arriba polarizar la respuesta T CD4 del perfil Th17 tisular inflamatorio para los perfiles de inmunidad TH2 humoral y TH1 celular, disminuyendo aún más la inflamación generalizada.

25 La amplificación del mecanismo por IL2 debe ser muy débil, apenas lo suficiente para amplificar específicamente la repolarización de la respuesta inmunitaria del perfil inflamatorio hacia el perfil de inmunidad.

35 De este modo, la recontextualización y la reprogramación logradas por la inmunoterapia usando las composiciones de la presente invención, mediante la recuperación de las células inmunes, mediante la acción antiinflamatoria de las células T de memoria específicos no relacionados, mediante la repolarización del perfil TH17 tisular inflamatorio para los perfiles de inmunidad electiva y efectiva TH2 y TH1, reconducirá la respuesta inmunitaria. Esta respuesta inmunitaria reconducida en tiempo real durante el proceso infeccioso podrá, en conjunto con un desplazador del equilibrio biológico, en este caso con el uso de diversos agentes antimicrobianos, tener la posibilidad de revertir este equilibrio biológico que se encuentra en el extremo de la curva de en que es muy favorable el microorganismo, para ser ahora favorable al hospedador y éste tener ahora tiene la oportunidad de curación.

40 Adecuación de protocolo al "estado" del sistema inmunológico en la patología y en el paciente que está siendo tratado.

45 En el caso de cáncer y septicemia, por los propios mecanismos fisiopatológicos, existe una violación de la integridad y funcionalidad del mecanismo T con una polarización inadecuada para un perfil de TREG supresor en las neoplasias y para Th17 tisular inflamatorio en las septicemias con una inoperabilidad casi completa del sistema inmunológico superado por la enfermedad. En estos casos, como en los ejemplos citados en este documento, la recontextualización debe llegar a todo el cuerpo para revertir toda la inmunosupresión, la tolerancia y la inmunoignorancia inducidas por la patología, así como restaurar toda la capacidad operativa y funcional del sistema inmunológico alcanzar una reprogramación y reconducción de una respuesta inmunitaria efectiva.

50 Fundamentos del protocolo terapéutico

El protocolo terapéutico de la presente invención diseñado para ser aplicado en los casos de cáncer y septicemia deberá:

- 60 - aplicarse en la mayoría de las regiones linfáticas estratégicas del cuerpo o de la infección. En los casos descritos en este documento, fueron alcanzados más de 10 territorios linfáticos. Deberá ser aplicado dentro de las áreas tumorales e infectadas, y en las áreas perilesionales.
- 65 - La formulación inmunoterapéutica debe contener al menos 5 antígenos de modo que contenga PAMP y DAMP con el fin de ser capaz de re contextualizar el sistema inmunológico.

- La zona de aplicación deberá solaparse, alcanzar y superar toda la extensión de las regiones dominadas por el tumor y por la infección.
- 5 - Los estímulos antigénicos se deberán repetir cada 4 o 5 días con el fin de evitar la generación de células supresoras capaces de abortar la nueva respuesta inmunitaria deseada o suprimir una repolarización alcanzada.
- El tratamiento deberá mantenerse de esta manera hasta la eliminación de la última célula neoplásica, o el final de la infección o la cicatrización de las lesiones, órgano o sistemas.
- 10 - En la práctica, deberán ser aplicada entre 1 y 3 ml de esta inmunoterapia en 10 o más territorios linfáticos. Conjuntamente, la presente invención deberá aplicarse en el interior de las áreas dañadas por la neoplasia o por la infección, así como exteriormente en los contornos.

15 En resumen, la inmunoterapia es distribuida "sistémicamente", en varios (al menos diez) territorios linfáticos, peri- y intratumorales o lesioanales con volumen suficiente para perturbar y desestabilizar el tumor y el dominio de su micro y macroambientes, o cubrir el área afectada significativamente por la infección y la inflamación, así como restaurar el microambiente, que sea favorable a la respuesta inmunitaria del organismo. Será aplicado cada 4 a 5 días con el uso de interleucina-2 exógena en dosis bajas ininterrumpidamente durante el período de duración de la enfermedad. En el caso de la septicemia, sepsis grave y shock séptico esta dosis debe ser la menor posible, según se señaló anteriormente.

20 Ejemplos

25 Para permitir una mejor comprensión de la presente invención y demostrar claramente los progresos técnicos realizados se presentan a continuación como ejemplos, los resultados de las diversas pruebas llevadas a cabo en relación con esta invención.

30 En el Ejemplo 1 se describen varias composiciones inmunogénicas preferidas de la presente invención. En los Ejemplos 2 a 8 se muestran las propiedades, usos y métodos terapéuticos empleando las composiciones inmunogénicas de la presente invención. En los Ejemplos 2 a 8 se utilizó composición inmunogénica descrita en el Ejemplo 1, Composición 1 y denominada en este documento como DECA.

35 Estos ejemplos se presentan solamente con fines ilustrativos y no deben considerarse de ninguna manera como limitantes del ámbito ni el alcance de la presente invención, a menos que se indique lo contrario.

40 Ejemplo 1: Composiciones inmunogénicas

45 Con el fin de lograr la recontextualización, renovación y reprogramación de la respuesta inmunitaria en tiempo real, las composiciones inmunogénicas deben tener una elevada diversidad de antígenos de patógenos para obtener el máximo efecto sinérgico en la unión de los PAMP y DAMP a sus receptores y permitir la consecución de un alto grado de activación de la inmunidad innata en las células centilena (con o sin función de ATC).

50 Estas composiciones deben utilizar, preferentemente, los agentes antigénicos para el que la mayoría de las personas, debido a contacto previo, presentaría clones de memoria de su sistema inmunológico capaces de inducir una amplia acción antiinflamatoria en paralelo a la recontextualización. Para ello, preferentemente se deben seleccionar agentes antigénicos que:

- correspondan a las infecciones más comunes contraídos por el individuo desde la infancia hasta la madurez (cuando el animal o el ser humano adquiere su "repertorio de la inmunidad").
- Se utilicen en los programas de inmunización, tales como los programas de vacunación infantil contra enfermedades endémicas y/o enfermedades epidémicas.
- Sean originarios de la microbiota potencialmente patógena, principalmente del tracto gastrointestinal, donde los linfocitos de memoria desempeñan un papel de barrera dinámica activa asegurando la supervivencia del individuo.
- Idealmente cada uno de los agentes antigénicos debe estar presente en una concentración de 0,001 a 500 microgramos por ml.

60 De acuerdo con estos conceptos han sido desarrolladas diversas formulaciones utilizando agentes antigénicos en sus formas ya disponibles, seguras y aprobadas para su uso en los programas de vacunación de seres humanos o pruebas de respuesta alérgica y pruebas de evaluación de la inmunidad.

65

La composición 1 mostrada a continuación (también denominada “DECA” en otro lado en el presente documento) forma parte de la invención reivindicada. Composición 1:

Componente	Concentración
KOC_Turberculina de Koch (lisado inactivado de <i>Mycobacterium bovis</i>).	0,004 ng/ml
PPD	0,004 µg/ml
AUR_Lisado inactivado de <i>Staphylococcus aureus</i> y lisado inactivado de <i>Staphylococcus epidermidis</i> a partes iguales .	6,94 µg/ml
PYOG_Lisado inactivado de <i>Streptococcus pyogenes</i> , lisado inactivado de <i>Streptococcus pneumoniae</i> y lisado inactivado de <i>Enterococcus faecalis</i> a partes iguales.	6,94 µg/ml
EST_Estreptoquinasa obtenida por purificación a partir de lisado inactivado de <i>Streptococcus</i> beta-hemolítico.	0,444 µg/ml
DOR_Dornasa obtenida por purificación a partir de lisado inactivado de <i>Streptococcus</i> beta-hemolítico.	0,111 µg/ml
Lisado inactivado de <i>Candida</i> (<i>Candida albicans</i> y <i>Candida glabrata</i> a partes iguales).	6,94 µg/ml
FLO_Lisado inactivado de <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium cannis</i> y <i>Tricophyton mentagrophytes</i> variedad <i>interdigitalee</i> a partes iguales .	6,94 µg/ml
Lisado e inactivado de <i>Escherichia coli</i> enteropatogenica (EPEC)	6,94 µg/ml
Lisado e inactivado de <i>Salmonella</i> (<i>Salmonella bongori</i> , <i>Salmonella enterica</i> y <i>Salmonella subterranea</i> a partes iguales)	6,94 µg/ml
Cloruro de sodio	7,5 mg/ml
Fosfato sódico dibásico heptahidratado	0,48 mg/ml
Fosfato potásico monobásico	0,06 mg/ml
Fenol	2,5 mg/ml
Agua	c.s.

Ejemplo 2: Modelo experimental de tratamiento de melanoma en ratones utilizando la composición antigénica DECA

5 Animales

Se utilizaron ratones C57BL6 hembras libre de patógenos específicos (SPF (25 -35 g, 8-12 semanas). Se mantuvo a los animales en un ambiente con temperatura y humedad controladas (22 ± 2 °C y 60-80%, respectivamente) en el ciclo de luz / oscuridad de 12 h con acceso libre a comida y agua hasta el momento del experimento.

Inducción de melanoma murino

Se inocularon células de melanoma de la cepa B16-F10 el día cero (1 x 10⁶ células en 100 µl de medio de cultivo por animal) por vía subcutánea (s.c.) en el dorso de ratones C57BL / 6 (Lee, Y.S., et al. Suppression of tumor growth by a new glycosaminoglycan isolated from the African giant snail *Achatina fulica*. *European Journal of Pharmacology*, 465: 191- 198, 2003). Los animales (n = 8 por grupo, Tabla 3) fueron tratados a partir del séptimo día (y posteriormente cada 4 días) con vehículo (control), DECA, o DECA + IL2, de acuerdo con el esquema presentado en la Tabla 1. El grupo DECA + IL2 también recibió inyecciones diarias de IL2 (20.000 UI, 2 veces al día por vía subcutánea). Los volúmenes de los tumores fueron evaluados con la ayuda de calibres digitales y determinados (mm³) según de la fórmula: volumen del tumor (mm³) = anchura x longitud x 0,5 (Lee, Y.S., et al. Suppression of tumor growth by a new glycosaminoglycan isolated from the African giant snail *Achatina fulica*. *European Journal of Pharmacology*, 465: 191-198, 2003). El volumen de la masa tumoral sólida fue evaluado cada 3 días durante 28 días tras la inyección de las células tumorales. La supervivencia de los animales fue evaluada durante 30 días tras la inyección de las células tumorales.

Tabla 1. Programa de tratamiento

Inicio en el séptimo día y posteriormente cada 4 días

GRUPO control (excipiente)

1° Solución salina sistémica - 24 inyecciones intradérmicas de solución salina (NaCl 0,9% estéril) en puntos predeterminados en las regiones dorsal y ventral.

5 2° Solución salina intratumoral - dos inyecciones (una en el centro 0,02 ml y base de la lesión 0,02 ml)

3° Solución salina perilesional (6 puntos de aplicación - con el fin de rodear el tumor)

GRUPO DECA

10 1° DECA sistémica - 24 inyecciones intradérmicas de solución DECA (estéril) en puntos predeterminados en las regiones dorsal y ventral. 2° DECA intratumoral (centro 0,02 ml y base de la lesión 0,02 ml). 3° DECA perilesional (6 puntos aplicación).

GRUPO DECA + IL2

15 1° DECA sistémica - 24 inyecciones intradérmicas de solución salina (solución de NaCl al 0,9%) en puntos predeterminados en las regiones dorsal y ventral.

2° DECA intratumoral - dos inyecciones (centro 0,02 ml y base de la lesión 0, 02 ml)

20 3° DECA perilesional (6 puntos de aplicación - con el fin de rodear el tumor)

4° 20.000 UI de IL-2 intratumoral (0,02 ml centro del tumor)

25 5° 20 000 UI de IL-2 perilesional (1 aplicación próxima de la región circundada por DECA)

6° 20.000 UI de IL-2 por vía intraperitoneal

OBS.: Diariamente a partir del séptimo día : 20 000 UI de IL-2 intraperitoneal (2 veces al día)

30 Resultados

Los resultados mostraron que 28 días después de la inoculación de células tumorales el volumen del tumor alcanzó su máximo de $6.728,65 \pm 2.027,01 \text{ mm}^3$ (media \pm SEM) con un 33,3% de supervivencia de los animales (3 de 9 animales que comenzaron el estudio se mantuvieron con vida 30 días después de la inoculación de B16F10 cels) (Figuras 1A y 1B). A pesar de no presentar diferencias estadísticamente significativas, el grupo de animales que recibieron tratamiento con DECA, el día 28 después de la inducción de la modelo de la masa tumoral mostró menor volumen en comparación con el grupo de vehículos ($3524,87 \pm 871,01 \text{ mm}^3$) y supervivencia de 50% (5 de 10 animales que comenzaron el estudio). Es importante mencionar que aunque no significativa, había al día 28, la inhibición de 47,6% en el volumen del tumor (en comparación con el grupo de control) y que la falta de significación puede ser debida al error estándar promedio presentado por el grupo de control. Para el grupo de DECA + IL-2, los resultados demostraron que combinación fue capaz de reducir el volumen del tumor de una manera significativa a partir del día 13 (57 % de inhibición) hasta el día 28, cuando la inhibición alcanzó casi el 67 % ($2198, 36 \pm 450, 39 \text{ mm}^3$) con una tasa de supervivencia del 80% (8 de 10 animales que se inició el estudio). Además, los animales mostraron una buena tolerancia al tratamiento repetido con IL-2. En clínica IL-2 se administra en dosis altas (600.000 a 720.000 UI / kg) y los síntomas tóxicos que aparecen son comparados con la inducción de estado controlado de shock séptico (presión arterial baja, baja resistencia vascular sistémica, toxicidad hepática y renal, así como edema pulmonar) (Rosenberg SA, Yang YC, Topalian SL, et al. Treatment of 283 consecutive patients with metastatic melanoma or renal cell cancer using high-dose bolus interleukin-2. JAMA, 271: 907-913, 1994.). El análisis mostrado en la Figura 1B corrobora los datos de la Figura 1A, demostrando que la reducción de volumen está relacionada con la reducción en la tasa de crecimiento del tumor (para el grupo DECA + IL-2).

En general, los resultados demostraron que el tratamiento con la combinación de DECA +IL-2, además de reducir el volumen / velocidad de crecimiento del tumor (Figuras 1A y 1B) aumentó la supervivencia de los animales en comparación con el grupo de control (excipiente) (figura 2), sugiriendo ser beneficioso para el tratamiento del melanoma.

Ejemplo 3: Tratamiento del melanoma maligno metastásico en la cuarta recidiva.

Datos del paciente

60 Paciente MBS, 46 años, sexo femenino.

Diagnóstico

65 Melanoma maligno metastásico en la cuarta recidiva de nivel III de Clark y Breslow $1,32 \text{ mm}^2$ diagnosticado el 16/05/2006.

Tratamientos convencionales anteriores

a. Primera cirugía oncológica

5 EL 01/06/2006 se realizó cirugía para la expansión del margen en el sitio de la lesión tumoral con la biopsia del ganglio linfático centinela, que resultó negativo para malignidad. El anatomopatológico complementario con inmunohistoquímica del ganglio linfático mostró la presencia de micrometástasis, la mayor de 0,17 mm, confirmando a posteriori el diagnóstico de melanoma maligno metastásico e inmunogénico, por la presencia de antígeno Melan A.

10 b. Segunda cirugía oncológica

El 20/02/2008 se realizó extracción de dos nódulos superficiales sospecha de recidiva en el muslo izquierdo cuyo anatomopatológico reveló diagnóstico de melanoma maligno metastásico. A continuación, el 09/04/2008 se realizó una extensión del margen quirúrgico, con biopsia de todas las lesiones operadas.

15 c. Tercera cirugía oncológica

Ocho meses más tarde (15/10/2008) se produjo una segunda recidiva en la piel del muslo izquierdo que mostró metástasis de melanoma maligno, con lesión coincidente con el margen quirúrgico. Se realizó una ampliación del margen quirúrgico, cuyo examen anatomopatológico de 27/11/2008 no reveló restos tumorales en el lecho quirúrgico.

d. Cuarta cirugía oncológica

25 El 13/05/2010 se diagnosticó una nueva lesión en el glúteo retirada quirúrgicamente el 19/05/2010 y sin prueba de congelación. El anatomopatológico mostró una nueva metástasis del melanoma metastásico con márgenes quirúrgicos comprometidos indicando la tercera recidiva de la enfermedad.

e. Resultados de la cuarta cirugía oncológica preadministración de DECA.

30 El 23/06/2010 se realizó una PET / TC que mostró que estaba se trataba de lesión tumoral demostrando la cuarta recidiva. El corto período de tiempo en el que se formó la cuarta recidiva a partir de una lesión residual mostró un carácter agresivo de las células metastásicas.

35 Evaluación inmunológica de preadministración de DECA

La evaluación inmunológica consistió en parte *in vitro* de análisis de sangre (hemograma, fenotipo de linfocitos, dosis de inmunoglobulinas, prueba RAST (alergia) electroforesis de proteínas de fase aguda y pruebas de autoinmunidad) y una parte *in vivo* (prueba de hipersensibilidad retrasada primaria y secundaria).

40 Las pruebas de hipersensibilidad retardada secundaria se realizaron con una batería de nueve antígenos (administrados 0,1 ml) a saber: 1) tuberculina bruta Koch 1:100.000; 2) PPD 20 UI/ml; 3) toxina estafilocócica 1:100; 4) toxina estreptocócica 1:100; 5) estreptoquinasa / Dornasa 40/10 UDS / ml; 6) Oidimicina 1:100; 7) *trichofitina* 1:100; 8) *Escherichia coli* 1:100; 9) *Salmonella spp.* 1:100.

45 Las pruebas de hipersensibilidad retardada primaria se realizaron utilizando parches cutáneos de DNCB 0,5% y 2%.

El resultado de la evaluación mostró una alteración en las proteínas de fase aguda, con un aumento de la VSG, PCR, alfa-1-glicoproteína ácida, mostrando una repercusión inflamatoria sistémica efecto del crecimiento del tumor, tras la cirugía, conforme los análisis de sangre realizados el 12/06/2010.

50 En la evaluación de la hipersensibilidad primaria se demostró que estaba suprimida. La hipersensibilidad retardada secundaria sistémica mostró disminución de + / ++ en +++++ para antígenos intracelulares y normal ++ / +++++ a otros antígenos, a distancia del tumor. En las zonas de de las recidivas todos los antígenos mostraron una respuesta muy disminuida de 0 / + para antígenos intracelulares y + / +++ a +++++ para otros antígenos. En la región peritumoral la reacción mostró estar prácticamente suprimida, con 0/0 para los antígenos intracelulares y 0 / + a otros antígenos.

60 Estos resultados de hipersensibilidad retardada secundaria también mostraron una inmunosupresión significativa.

Tratamiento con DECA

65 Comenzó el 26/06/2010 y terminó el 04/08/2010, durante el período de espera para la aprobación de la cirugía por el convenio de salud de salud. El tratamiento inmunoterapéutico se llevó a cabo con el consentimiento del paciente. La inmunoterapia con DECA se realizó como sigue:

- Aplicación de 1,8 ml de la composición antigénica dividido en 2 aplicaciones de 0,9 ml próximas a los 10 territorios linfáticos principales.
- Margen de 3-4 cm de distancia entre puntos de aplicación para facilitar la lectura de la evolución del tratamiento con intervalo de 4 ± 1 días.
- Administración de 9 juegos extras perilesionales 1,8ml en dos aplicaciones de 0,9 por juego utilizado, bordeando las cicatrices de la cirugía del tumor primario, la segunda y tercera recidivas, así como la región de la cuarta y quinta recidivas también con intervalo 4 ± 1 día.
- En base a la evaluación de la segunda aplicación se realizó conjuntamente una aplicación intratumoral con volumen equivalente a diez composiciones 1,8ml.
- Aplicación de interleucina-2 recombinante humana en dosis bajas, en el nivel de saturación de receptor en concentración de 1 a 2 millones de unidades por metro de superficie corporal situados a una distancia de 5 cm de la lesión. Para la paciente se aplicaron 1 millón de unidades diaria subcutáneas. En los días de aplicación del antígeno, tras aplicar estos, fueron administradas dos dosis adicionales, una de 1 millón de unidades en la región intraperilesional y otra de 1 millón de unidades en la zona intratumoral. Estas aplicaciones totalizaron 3 millones de unidades en estas ocasiones, manteniéndose dentro de los límites de baja dosis recomendada por unidad de superficie corporal.

De esta forma, en el momento de la cirugía habían sido aplicadas 11 sesiones de inmunoterapia sistémicas y perilesionales entre el 24/06/2010 al 02/08/2010, así como 5 intratumorales con intervalo de 4 ± 1 día al mismo tiempo o un día después de las sistémicas y perilesionales.

Es interesante mencionar que los exámenes de ultrasonido Doppler (los día 19/07/2010 y 04/08/2010) sugieren la transformación del tumor en un área inflamatoria sin angiogénesis.

Evaluación del tratamiento de inmunoterapia con DECA

En la quinta cirugía el 05/08/2010, el examen de congelación mostró ausencia de tumor en la zona tratada, que se sometió sólo a extracción conservadora de la lesión inflamatoria.

Resultado del tratamiento de inmunoterapia con DECA

El examen anatomopatológico postoperatorio del 05/08/2010 mostró la presencia granuloma en empalizada con necrosis central, piel con denso infiltrado inflamatorio crónico envolviendo el granuloma gigantocelular de cuerpo extraño descrito anteriormente, ausencia de neoplasia residual y márgenes quirúrgicos libres de neoplasia.

El examen inmunohistoquímico reveló ausencia completa de células tumorales en el tejido extirpado quirúrgicamente tratado previamente con DECA de acuerdo con los límites de las técnicas de diagnóstico disponibles (Figuras 3A a 3C).

Después de las dos primeras aplicaciones del protocolo descrito anteriormente, el paciente se recuperó de la inmunosupresión, hecho evidenciado por la normalización y la hiperactivación de todos los puntos de aplicación de la inmunoterapia como ocurre con un paciente normal. Estos resultados demuestran que la recuperación del mecanismo T y de toda la inmunidad celular de perfil TH1 de la paciente que estaban subyugados por el tumor. Concomitantemente, la inmunoterapia genera un proceso inflamatorio que envolvió completamente la lesión tumoral necrosándola y eliminándola conforme mostraron las ecografías y fue comprobado por el examen histológico.

Desde el 07/08/2010 al 30/11/2011, la paciente fue tratada de la misma manera sistémica y perilesional 2 veces a la semana y con interleucina-2 humana recombinante en dosis por debajo de la saturación del receptor con 600 000 unidades diarias. Desde entonces, recibe administración de la batería de antígenos semanalmente y de interleucina 2 diariamente. Por lo tanto, la paciente ha estado libre de tumores durante 18 meses.

Conclusión del caso

Los datos evaluados y la evolución clínica de la paciente hasta el momento, sugieren fuertemente que la inmunoterapia con las composiciones inmunogénicas de la presente invención fue la responsable de la eliminación del tumor.

Ejemplo 4: Lucha contra un melanoma maligno

Datos del paciente

Paciente PPC, 62 años, varón.

Diagnóstico

5 Melanoma maligno nivel II de Clark y Breslow 1,2 mm² diagnosticado el 02/02/2011.

Tratamientos anteriores

10 Este caso no existieron tratamientos previos, pues la inmunoterapia con DECA se realizó antes de la cirugía oncológica del tumor primario, después de la aplicación de la expresión del consentimiento.

Evaluación inmunológica pretratamiento con DECA

15 Como no había tiempo hábil para una evaluación inmunológica previa debido a la necesidad de cirugía en el menor tiempo posible, esta evaluación se realizó mediante la lectura de los antígenos aplicados durante el tratamiento con DECA.

Tratamiento con DECA previo a la cirugía oncológica

20 En el período preoperatorio (10/02/2011 al 17/02/2011) se inició el tratamiento del paciente de la siguiente manera:

- Aplicación, próxima a los 10 principales territorios linfáticos, de 1,8 ml de la formulación 1 o DECA, divididos en 2 aplicaciones de 0,9 cc.

25 Margen de 3-4 cm de distancia entre puntos de aplicación para facilitar la lectura de la evolución del tratamiento con intervalo de 4 ± 1 día.

- Administraciones de 2 juegos extra de la composición DECA 1,8 ml divididas en dos aplicaciones de 0,9 ml para cada composición, bordeando el tumor de melanoma en el primer día de tratamiento.

30 • Aplicación intratumoral de cinco composiciones DECA de 1,8 ml cada una, con un volumen final de 9,0 cc.

35 • Aplicación de dosis bajas, en nivel de saturación de receptores en concentración de 1 a 2 millones de unidades por m² de superficie corporal situados a una distancia de 5 cm de la lesión. Se utilizaron para los pacientes 1 millón de unidades diarias mediante inyección subcutánea.

40 De esta manera, hasta la fecha de la cirugía se aplicaron 2 sesiones de inmunoterapia sistémica, 01 perilesional y 01 intratumoral siendo estas dos últimas aplicadas en el primer día de tratamiento. A este tratamiento se asoció la aplicación diaria de interleucina-2 recombinante humana en las dosis y manera anteriormente descritas.

Resultado del tratamiento con DECA previo a la cirugía oncológica

45 En este período de 8 días de tratamiento, el paciente respondió bien al tratamiento inmunológico con la regresión total del melanoma maligno. La lesión en la parte transformada en tumor progresó con un intenso proceso inflamatorio local que se ulceró y desapareció dando lugar al proceso inflamatorio descrito en el examen anatomopatológico quirúrgico. Es necesario mencionar que el paciente presentó en este período: episodios de fiebres altas y bajas y una adenopatía inguinal homolateral inflamatoria intensa.

Tratamiento oncológico quirúrgico convencional

50 Se propuso la retirada completa del tumor primario con amplio margen quirúrgico de seguridad, con análisis del ganglio linfático centinela intraoperatorio.

Cirugía oncológica convencional del tumor primario

55 El 18/02/2011 el paciente fue operado y se realizó la extirpación completa del tumor con un amplio margen de seguridad cuyo análisis de dos ganglios satélites dio resultado negativo para malignidad. Por esta razón no se hizo vaciado ganglionar.

60 *Resultados de la cirugía oncológica convencional del tumor primario*

El examen anatomopatológico confirmó regresión tumoral completa mostrando:

65 • En la piel: alteraciones inflamatorias con área de ulceración recubierta por tapa fibrino-leucocitaria, presentando en la base tejido de granulación con exuberante infiltrado inflamatorio mixto. Esta infiltrado permea y se extiende por todo el epitelio en los bordes de la úlcera, habiendo también células gigantes multinucleadas de tipo cuerpo

extraño. La región blanquecina y abombada descrita en microscopía corresponde al queratosis seborreica de tipo papilomatoso con acantosis, hiperqueratosis y papilomatosis de la epidermis. Toda la piel se sometió a examen histológico sin neoplasia melanocítica residual.

- 5 • En el ganglio linfático centinela I: fibrosis extensa de la región hilar e histiocitosis sinusal y subcapsular no siendo identificados depósitos metastásicos mediante el examen morfológico;
- En el ganglio linfático centinela II: hallazgos histológicos similares a los descritos en I, no siendo identificados depósitos metastásicos mediante el examen morfológico.

10 En esta fecha, el examen inmunohistoquímico de los ganglios centinelas I y II reveló ausencia de micrometástasis de melanoma.

15 El examen inmunohistoquímico del tumor primario reveló ausencia completa de células tumorales del tejido extirpado quirúrgicamente tratado previamente con DECA de acuerdo con los límites de las técnicas de diagnóstico disponibles (Figura 4).

Resultados del tratamiento con DECA pre-cirugía oncológica del tumor primario

20 Estos datos producidos por la cirugía dentro del contexto y limitaciones de las técnicas de diagnóstico disponibles, mostraron resultados sorprendentes al no detectar el tumor primario después del tratamiento inmunoterapéutico con DECA.

Tratamiento con DECA post-cirugía oncológica

25 Con este resultado la regresión completa del tumor fue continuado el tratamiento inmunológico con las siguientes bases:

- 30 • Aplicación, próxima a los 10 principales territorios linfáticos, de 1,8 ml de la formulación 1 o DECA, divididos en 2 aplicaciones de 0,9 cc.
- Margen de 3-4 cm de distancia entre puntos de aplicación para facilitar la lectura de la evolución del tratamiento con intervalo de 4 ± 1 día.
- 35 • Administraciones de dos composiciones extras perilesionales de 1,8 ml cada una, con dos aplicaciones de 0,9ml por composición bordeando la gran cicatriz quirúrgica sin ningún espacio entre ellas, también, con un intervalo de 4 ± 1 días
- 40 • Aplicación diaria de interleucina 2 recombinante humana en dosis bajas, en el nivel de saturación de receptores en concentración de 1 a 2 millones de unidades por m^2 de superficie corporal situados a una distancia de 5 cm de la cicatriz quirúrgica. Se utilizaron para el paciente 1 millón de unidades por m^2 de superficie corporal por aplicación.

Resultados del tratamiento con DECA post-cirugía oncológica

45 El área de la extirpación quirúrgica de los nódulos satélites en la región inguinal, evolucionó con formación de recolección de fluido confirmada el 16/03/2011 por ecografía que mostró: formación cística simple de 6,0 x 5,2 x 3,1 cm, con difuminando de planos grasos adyacentes y sin detección de vascularidad anormal o alteraciones vasculares tipo de tumoral en Doppler a color.

50 Esta colección descrita arriba evolucionó con un proceso inflamatorio local, reduciendo su tamaño y aumentando adenopatía inflamatoria detectada en la ecografía 28/03/2011. El Doppler color no observó ninguna vascularización anormal en esta formación. En relación con el examen de 16/03/2011 se observa: 1) marcada reducción en la formación que previamente tenía aspecto cístico, sugiriendo reabsorción significativa, organización y favoreciendo la hipótesis inflamatoria / reactiva (colección de post-quirúrgica), que también se observó en la región de los ganglios inguinales izquierdos 2) los ganglios linfáticos con aumento de tamaño, preservando el hilio vascularizado y de aspecto reactivo, situados medial y proximal a la formación mencionada y midiendo 1,6 x 0,8 cm y 2,4 x 1,7 cm.

60 Se continuó el tratamiento inmunológico hasta el 31/07/2011, cuyo examen físico reveló una regresión completa de las lesiones y la transformación de la linfadenopatía regional reactiva intensa en una linfadenopatía regional reactiva residual.

65 El 05 y 08 julio de 2011, la repetición del PET / CT y de la ecografía de tejidos blandos con "Doppler" color, de la pierna izquierda y la región inguinal izquierda, respectivamente, confirmaron la naturaleza inflamatoria y la regresión completa de las lesiones, dejando sólo la adenopatía inflamatoria reactiva residual. el examen también mostró una regresión del aumento difuso de la actividad metabólica en la médula ósea del esqueleto axial y apendicular,

mostrando un efecto de estimulación de la médula ósea por DECA en la reconducción de la respuesta inmunitaria, lo que demuestra su capacidad para estimular y regenerar los tejidos.

Discusión de los resultados del tratamiento con DECA pre y post-cirugía oncológica convencional

Se trata de un caso de melanoma maligno de aproximadamente 1 cm que se sometieron a una biopsia puntual sin tratamiento quirúrgico. Este tumor fue la diana del tratamiento inmunoterapéutico con batería 9 antígenos asociados con dosis reducidas de interleucina-2 recombinante humana descrito anteriormente. Este tratamiento causó una reacción inflamatoria intensa implicando toda la lesión conduciendo a la necrosis y ulceración de todo el área del tumor que desapareció en 8 días de tratamiento.

Después de este período, el paciente se sometió a cirugía y el examen anatomopatológico confirmó la sustitución del tejido tumoral por una ulceración con una ausencia total de células tumorales rodeada por una inflamación intensa con características de granuloma de cuerpo extraño (Figura 4B).

El examen anatomopatológico de los dos ganglios linfáticos centinelas comprobó hiperplasia linfoide reactiva con una intensa histiocitosis sinusal y subcapsular, y extensa fibrosis del hilio no siendo identificado ningún depósito metastásico. El examen inmunohistoquímico confirmó el hallazgo confirmando la ausencia de micrometástasis en estos ganglios linfáticos.

La región en la que fueron retirados los ganglios linfáticos satélites evolucionó con la formación de una acumulación de líquido rodeada por un proceso inflamatorio con un aumento de la linfadenitis inflamatoria reactiva locorregional mostrando una buena respuesta inmunitaria. Con el tratamiento continuado, un intenso proceso inflamatorio envolvió esta acumulación de líquido provocando su regresión y la absorción acompañada de una reacción inflamatoria no tumoral de los ganglios satélites.

Los exámenes de ecografía con Doppler y PET-CT demuestran el aspecto inflamatorio no tumoral sugerido, comprobando la ausencia de masa tumoral. Estas pruebas demostraron que la intensa reacción linfática regional y el aumento de actividad de la médula ósea evidencian una respuesta inmunitaria antitumoral fuerte y eficaz.

Conclusión del caso

Los datos analizados y la evolución clínica del paciente hasta la fecha sugieren fuertemente que la inmunoterapia usando las composiciones de la presente invención como único tratamiento empleado pre-cirugía oncológica del tumor primario, fue la responsable de la eliminación constatada del tumor en 8 días.

Ejemplo 5: Lucha contra un carcinoma gástrico microtubular avanzado con carcinomatosis peritoneal y propagación linfática metastásica intraabdominal

Datos del paciente

Paciente R - M varón de 72 años.

Diagnóstico

Adenocarcinoma gástrico microtubular avanzado con carcinomatosis peritoneal y propagación linfática metastásica intraabdominal.

Exámenes realizados

a. Convencionales de endoscopia digestiva alta y anatomopatológicos

La endoscopia digestiva alta del 12/06/2008 mostró neoplasia de antro gástrico avanzada y estenosante, confirmada por el examen anatomopatológico de 13/06/2008 el anatomopatológico de la biopsia mostró.

b. Pruebas de imagen convencionales

El día 20/06/2008 se realizó una tomografía del abdomen y la pelvis para estadificación preoperatoria de la neoplasia gástrica cuya conclusión fue de carcinoma gástrico avanzado con carcinomatosis peritoneal por propagación de continuidad y linfática extensa en múltiples territorios linfáticos midiendo 4 cm el mayor de ellos (Figura 5, A1-A3).

c. Evaluación inmunológica post-cirugía

La primera consulta se realizó el 23/07/2008 después de la cirugía y se realizaron análisis convencionales y evaluación inmunológica el día 24/07/2008.

Las pruebas convencionales mostraron leve anemia microcítica (Hb = 11,7 g / dl (VN = 13-18 g / dl), HT = 37,1% (VN

= 40-54%) y VCM =70 U3 (VN = 80 a 97 U3)) y hiperplaquetemia (755.000 (VN =150.000-450.000/mm³)), linfocitosis (9.100/ mm³ (VN = 4.000 a 11.000/ mm³)), hiperglucemia (155 mg / dl (VN ≤ 99 mg / dl), VSG elevado 110 mm / h, ácido úrico elevado (7,3 mg / dl (VN ≤ 7,0 mg / dl), PCR elevada (0,6 mg / dl (VN ≤ 0,5 mg / dl), alfa-1-glicoproteína ácida alta (141 mg / dl (VN ≤ 140 mg / dl) y amilasa elevada con 170 U / L (VN = 25 a 125 U / L).

5 La evaluación inmunológica se llevó a cabo después de la cirugía con los siguientes ensayos *in vitro* (análisis de sangre) e *in vivo* (hipersensibilidad primaria y secundaria).

10 Las ensayos *in vitro* consistieron en: nivel de inmunoglobulina T dependientes, que exhiben valores muy próximos a los valores máximos normales (Ig A 324 (VN = 82 a 453), IgG 1.476 (VN = 751 a 1560), IgM 200 (VN = 46 a 304) y Ig E 61,89 (VRN ≤ 100)), RAST negativo para todas las pruebas, beta-2 microglobulina 2496 (VN = 2030) inmunofenotipo de linfocitos T CD3 + normales, con CD4⁺ normales (43 3% (845/ mm³) VN = 27 a 57% (560 a 2700/mm³), CD8⁺ disminuidos en valores absolutos y relativos (242/ mm³ VN = 14 a 34% (330 a 1400/ mm³) y una relación CD4⁺ / CD8⁺ elevada (3,49 VN = 0,98-3,24).

15 Ensayos *in vivo*:

- hipersensibilidad retardada primaria: realizada con "parches" cutáneos de DNCB 0,5% y 2%.
- 20 • hipersensibilidad retardada secundaria.

Los resultados mostraron:

- hipersensibilidad primaria suprimida completamente.
- 25 • hipersensibilidad retardada sistémica secundaria disminuida de 0 /+ en +++++ para antígenos intracelulares y disminuida de +/++ para otros antígenos, a distancia del tumor. En el área pericicatricial todos los antígenos mostraron reacciones suprimida de 0/+ para antígenos intracelulares y 0/+ en +++++ para otros antígenos.

30 Estas pruebas *in vivo* e *in vitro*, mostraron una inmunosupresión significativa de la inmunidad celular perfil Th1, primaria y secundaria, local y sistémica, que es la responsable de la inmunidad antitumoral y eliminación de las células tumorales, y mecanismo de escape tumoral, por medio del perfil Th2, con una respuesta de anticuerpos en lugar de una respuesta celular. La inmunosupresión primaria con la pérdida de la integridad del mecanismo T y sin la posibilidad de elaborar una nueva respuesta T, aliada a la ruptura de la inmunidad celular de perfil TH1 responsables de la inmunidad anti-tumoral y el predominio de la respuesta anticuerpo de escape en lugar de la respuesta celular, mostraron un sistema inmunológico comprometido, subyugado por el tumor sin posibilidades de contener la enfermedad por sí mismo.

40 d. Conclusión diagnóstica

Adenocarcinoma gástrico microtubular avanzado estenosante con carcinomatosis peritoneal por contigüidad y propagación linfática metastásica en múltiples territorios linfáticos midiendo 4 cm el mayor de ellos.

45 Tratamiento

e. Convencional quirúrgico

50 El tratamiento realizado (el día 11/07/2008) fue la gastrectomía con reconstrucción en B2 paliativa con linfadenectomía parcial.

El examen anatomopatológico de la gastrectomía y linfadenectomía parciales y paliativas del 11/07/2008 mostró la existencia de enfermedad neoplásica avanzada extensa restante.

55 f. Quimioterapia y radioterapia convencionales

60 Por tratarse de un carcinoma gástrico avanzado con carcinomatosis peritoneal y propagación linfática intraabdominal y sin posibilidad de curación mediante cirugía y quimioterapia, se propuso la radioterapia combinada con quimioterapia no curativas con 5-fluorouracilo y Taxotere en ciclos de 21 días para el control de la masa tumoral y mejora tanto de la calidad de vida como de la supervivencia del paciente. Se realizó este tratamiento quimioterapéutico del día 14/08/2008 al día 26/12/2008. Por su parte, las 25 sesiones de radioterapia se iniciaron el 10/10/2008 y finalizaron el 13/11/2008.

g. Tratamiento con DECA

Por las razones anteriores, se propuso asociar un tratamiento de inmunoterapia a la quimioterapia paliativa para mejorar las condiciones del paciente y en previsión de posibles resultados benéficos de esta asociación farmacológica.

La inmunoterapia comenzó una semana antes (dos aplicaciones de DECA) del inicio de la quimioterapia, paraba durante la primera semana de cada ciclo de 21 días de quimioterapia y continuaba en la segunda y tercera semanas. De esa manera, la quimioterapia se mantuvo sin interrupción, mientras que la terapia inmunológica fue realizada en periodos de 2 semanas con intervalo de 1 semana.

El protocolo DECA fue realizada de la siguiente forma:

- Aplicación de la formulación DECA de 1,8 ml en dos aplicaciones de 0,9 ml próximas a los 10 territorios linfáticos principales.
- Margen de 3-4 cm de distancia entre puntos de aplicación para facilitar la lectura de la evolución del tratamiento con intervalo de 4 ± 1 día.
- A partir de la evaluación de la cuarta aplicación, momento en el cual todas las respuestas se normalizaron volviéndose hiperérgicas.

La interleucina-2 humana recombinante a dosis bajas, en el nivel de saturación de receptor en concentraciones de 1 a 2 millones de unidades por m^2 de superficie corporal, para el paciente a 600.000 unidades diarias aplicadas cerca de la cicatriz quirúrgica.

h. Resultados del tratamiento

i. Convencional

El tratamiento convencional aislado (cirugía) se realizó de forma paliativa para solucionar la obstrucción gástrica del paciente.

ii. Tratamiento con DECA asociado a quimioterapia

Los resultados del paciente en las pruebas de hipersensibilidad retardada primaria se normalizaron en un mes y en las de hipersensibilidad retardada secundaria en dos semanas, demostrando una recuperación de la respuesta celular del mecanismo T. En dos semanas desaparecieron los signos y síntomas de inflamación y infección sistémicos.

Después de seis meses de tratamiento de DECA y quimioterapia asociados (iniciados respectivamente el 06/08/2008 y el 14/08/2008) el paciente fue reevaluado. Después de seis meses (09/02/2009) de tratamiento inmunológico y quimioterapéutico se observó:

- reducción significativa de la mayoría de la linfadenomegalia abdominal;
- reducción significativa en los signos de carcinomatosis;
- remisión completa de la inmunosupresión con positivización después de 4 semanas de tratamiento, de la lectura de hipersensibilidad retardada secundaria presentando una reacción positiva de 3+/4+ en 5+ para los 9 antígenos antes tolerados. La hipersensibilidad retardada primaria antes totalmente suprimida se volvió positiva, también después de 1 mes de tratamiento.

Después de 9 meses (13/05/2009), del tratamiento descrito anteriormente, se observó:

- Reducción de la adenomegalia del tronco celíaco de 2,0 a 1,6 cm para 1,4 cm sin más adenomegalias (Figuras 5B2 y 5B3)
- Atenuación de aspecto fibrocicatricial mostrando desaparición de las señales de carcinomatosis (Figura 5B1).
- Derrame pleural izquierdo inalterado.

Después de 1 año y 2 meses (03/10/2009), del tratamiento descrito anteriormente, se observó:

- Reducción significativa de derrame pleural izquierdo;
- Reducción de la adenomegalia del tronco celiaco de 1,4 cm a 1,3 cm sin otras adenomegalias
- 5 • Atenuación de las alteraciones fibrocicatriciales de la cavidad quirúrgica.

Después de 1 año y 8 meses (13/04/2010), del tratamiento descrito anteriormente, se observó:

- Resolución de derrame pleural izquierdo.
- 10 • adenomegalia del tronco celiaco sin cambios (Figura 5C2).

Después de 1 año y 11 meses (31/07/2010) del tratamiento descrito anteriormente, se observó:

- 15 • Reducción de adenomegalia del tronco celiaco de 1,3 cm a 1,1 cm sin otras adenomegalias.
- Desaparición completa de los nódulos hepáticos;

Después de dos años y cuatro meses (18/02/2011) del tratamiento descrito anteriormente, se observó:

- 20 • Tórax sin cambios.
- Condiciones mantenidas en los ganglios linfáticos celíacos, midiendo 1,1 cm.

25 Conclusión del caso

La asociación de radioterapia, quimioterapia e inmunoterapia realizadas entre agosto y diciembre de 2008 trajo como resultado: la remisión completa de la inmunosupresión y una reducción significativa tanto de carcinomatosis como de la adenomegalia del abdomen superior. Se mantuvieron los nódulos hepáticos y los ganglios linfáticos agrandados del tronco celíaco siendo el mayor de 1,6 cm.

35 A partir de esta evaluación fue instituida exclusivamente la inmunoterapia hasta febrero de 2012. Como resultado de este tratamiento se puede observar: remisión completa de nódulos hepáticos sospechosos, desaparición de los signos de la carcinomatosis y reducción significativa de los ganglios linfáticos 2,0 a 1,6 cm para 1,1 cm.

Estos datos sugieren fuertemente que la inmunoterapia fue eficaz como complemento de la radioterapia y la quimioterapia, y durante su aplicación en solitario fue eficaz para la inducción y el mantenimiento de la remisión del tumor después de 3 años y 6 meses de tratamiento (Figura 5, C1-C3).

40 Ejemplo 6: Lucha contra un pseudotumor inflamatorio múltiple relacionado con el virus del herpes humano 8.

Datos del paciente

45 Paciente A - D 40 años de edad, mujer

Diagnóstico

Pseudotumor inflamatorio múltiple relacionado con Virus herpes humano 8.

50 Historia clínica

a. Resumen clínico

55 En consulta el 04/06/2006 presentó antecedentes de fiebre vespertina (entre 37,5 a 37,8 °C), dolor de cabeza, fatiga y disnea de esfuerzo leve. En la exploración física la paciente estaba febril, adinámica, algo postrada, con roncus dispersos en ambos pulmones y hepatoesplenomegalia significativa.

b. Exámenes realizados

60 Análisis de sangre convencionales

65 Los resultados de los análisis de laboratorio de 05/10/2006 mostraron la existencia de un cuadro infeccioso / inflamatorio a ser aclarado: VSG= 41 mm (VN ≤ 10 mm), CR = 3,83 mg / dl (VN ≤ 0,50 mg / ml), alfa-1 glicoproteína ácida = 1,66 mg / dl (VN = 50 a 120 mg / dl), hipocalcemia Ca²⁺ = 7,4 mg / dl (VN = 8,6 a 10,3 mg / dl), trombocitopenia leve con plaquetas 143.000/mm³ (VN = 150.000 a 450.000/ mm³), proteinuria de 0,66 g. El día 05/10/2006 la investigación serológica dio resultado negativo para los siguientes agentes etiológicos: toxoplasmosis,

dengue, brucelosis, VIH, hepatitis por virus: A, B y C; *Paracoccus spp*, *Histoplasma spp*, la búsqueda directa de antígeno por PCR dio resultado negativo para *Cryptococcus spp* y *Histoplasma spp*. La serología mostró infección previa por citomegalovirus, EBV (mononucleosis) y rubéola. Si bien la búsqueda de herpesvirus fue IgM positiva. Esta patología está relacionada con el herpes virus tipo 8 y la reactividad cruzada entre este tipo con los tipos 1 y 2 sugiere infección con el serotipo 8 humano.

Pruebas de imagen convencionales

La tomografía computarizada del tórax realizada el 09/10/2006 reveló: múltiples nódulos pulmonares bilaterales de hasta 3,0 cm, un área irregular de aspecto tumoral de 5,0 cm en el vértice izquierdo, broncograma aéreo a la derecha y un nódulo en el lóbulo medio derecho adherido a la pleura (Figura 6A). La tomografía de abdomen contemporánea confirmó un importante hepatoesplenomegalia con múltiples ganglios en toda la raíz del mesenterio, nódulos hepáticos y un nódulo esplénico. Fue también constatado un cuadro de sinusitis maxilar y edema e hipertrofia de las fosas nasales.

Exámenes anatomopatológicos convencionales

El examen anatomopatológico se reveló complejo mostrando un proceso inflamatorio con una gran cantidad de histiocitos. El examen fue enviado a un especialista del pulmón. El análisis del anatomopatológico resultó en el diagnóstico de una enfermedad rara: pseudotumor inflamatorio.

Evaluación inmunológica

La evaluación inmunológica se realizó el 05/10/2006 con los siguientes ensayos *in vitro* (análisis de sangre) e *in vivo* (hipersensible primaria y secundaria).

En pruebas *in vitro* revelaron el siguiente escenario clínico: niveles normales de inmunoglobulina (Ig G, Ig A, Ig E), complemento total y C3 y C4 de acuerdo a los valores normales, inmunofenotipo de linfocitos T totales CD3+, con disminución en números absolutos ($715/\text{mm}^3$ (mínimo valor normal = $1035/\text{mm}^3$)) mostrando linfopenia T, con CD4+ normales (54% ($551/\text{mm}^3$) VN = 35-62% (535 a $2580/\text{mm}^3$), CD8+ disminuidos en términos absolutos ($163/\text{mm}^3$ VN = 17-43% (255 a $1720/\text{mm}^3$) y una relación CD4+/CD8+ alta (3,4 (VN = 0,9 a 2,6)).

Estos resultados mostraron inmunidad humoral y del sistema complemento normales, sin embargo, no reactivo, es decir, no involucrados en la respuesta inmunológica de la infección en curso. El análisis de inmunofenotipo mostró una linfopenia T y respuesta T en curso, debido a la alta relación linfocitos T CD4+/CD8+ (predominio de las células auxiliares sobre las supresoras / citotóxicas). El agente infeccioso provocó una polarización para una respuesta del tipo de célula TH1.

Pruebas *in vivo*:

- hipersensibilidad retardada primaria: se realiza con "parches" cutáneos de DNCB 0,5% y el 2%.
- hipersensibilidad retardada secundaria.

Los resultados fueron:

- Hipersensibilidad primaria suprimida.
- hipersensibilidad retardada secundaria sistémica disminuida.

La conclusión de la evaluación inmunológica: las pruebas *in vivo* e *in vitro* mostraron que el agente infeccioso provocó una polarización para una respuesta T celular del tipo TH1. Esta respuesta se demostró ineficaz con linfopenia y ruptura del mecanismo T por la supresión de la hipersensibilidad retardada primaria indicando la incapacidad de realizar una nueva respuesta primaria, así como hipersensibilidad retardada secundaria disminuida mostrando una memoria celular y mecanismo efector comprometidos.

Conclusión diagnóstica

Pseudotumor inflamatorio múltiple (asociado y relacionado con el virus herpes humano 8) con inmunosupresión T asociada.

Tratamiento

Convencional

La intervención quirúrgica constituye una forma efectiva de tratamiento y la etiología se relaciona con el herpes virus 8 lo que explica la reactividad cruzada con la respuesta IgM positiva para herpes virus 1 y 2. Se han descrito casos de recidiva tras extirpación quirúrgica. En este caso, en el que hay múltiples nódulos pulmonares, abdominal (en la raíz del mesenterio) y hepatoesplenomegalia, con cuadro inflamatorio sistémico, hipocalcemia, no se encontraron relatos similares en la literatura científica. Por lo tanto, la cirugía no puede ser curativa. Es posible inferir que la importante inmunosupresión T observada puede haber contribuido a la forma múltiples e inusual de una patología rara.

Tratamiento con DECA

Debido a la inmunosupresión observada y la imposibilidad de tratamiento quirúrgico (debido a múltiples focos), con el consentimiento de la paciente se decidió tratar esta inmunosupresión con DECA, por un período de aproximadamente dos meses, después de lo cual se volvería a evaluar a la paciente. El protocolo consistió en:

- Aplicación en el abdomen de 3 formulaciones DECA 1,8 cc, dividida cada una en dos aplicaciones de 0,9 cc, y aplicación de dos formulaciones DECA de 1,8 cc, dividida cada una en dos aplicaciones de 0,9 cc, respectivamente, una en cada miembro superior derecho y izquierdo con 0,9 ml en el brazo y 0,9 ml en el antebrazo bilateralmente próximo a los 10 territorios linfáticos principales.
- Margen de 3-4 cm de distancia entre puntos de aplicación para facilitar la lectura de la evolución del tratamiento con intervalo de 7 ± 2 días.
- Aplicaciones diarias de interleucina-2 recombinante humana a dosis bajas en el nivel de saturación de receptor en concentraciones de 1 a 2 millones de unidades por m^2 de superficie corporal. Para la paciente fueron utilizadas 600.000 unidades una vez al día por vía subcutánea en el abdomen.

I. Resultados del tratamiento

I. Convencional

En este caso no había alternativas terapéuticas una vez que la cirugía no sería eficaz frente a las múltiples manifestaciones de la enfermedad,

II. Tratamiento con DECA

La paciente normalizó los resultados de pruebas de hipersensibilidad retardada primaria en un mes y de hipersensibilidad retardada secundaria en dos semanas demostrando una recuperación de la respuesta celular del mecanismo T. En dos semanas habían desaparecido los signos y síntomas de inflamación e infección sistémicos.

Tras de dos meses de tratamiento reevaluó a la paciente. En la exploración física, el paciente no presentaba signos de infección o inflamación, y hubo regresión de la hepatoesplenomegalia. La tomografía computarizada del tórax y abdomen realizada el 11/12/2006 mostró lo siguiente:

- Pulmones: tenues opacidades en vidrio fosco en las suturas de vértice derecho (secuelas quirúrgica), la desaparición de múltiples opacidades nodulares dispersas en ambos pulmones (remisión completa del proceso infeccioso e inflamatorio pulmonar) y regresión completa del ganglio linfático hiliar derecho (Figura 6B).
- En el abdomen: remisión completa de hepatoesplenomegalia, y reducción significativa en los ganglios linfáticos de la raíz del mesenterio.

Conclusión del caso

Después del período de tratamiento (de 15/10/2006 a 11/12/2006) con DECA ocurrió: regresión completa de hepatoesplenomegalia, de los múltiples nódulos pulmonares y abdominales con normalización de los ganglios mesentéricos, así como de los síntomas clínicos de la inflamación y la infección sistémicas en las exploraciones de 11/12/2006. También hubo remisión completa de la inmunosupresión con la positivización, tras 2 semanas de tratamiento, de la lectura de hipersensibilidad retardada mostrando una reacción positiva de 3+ / 4+ en 5+. La hipersensibilidad retardada primaria antes suprimida se volvió positiva tras 1 mes de tratamiento. Estos resultados mostraron una remisión completa: clínicos, de laboratorio y de imagen del pseudotumor inflamatorio y del cuadro de inmunosupresión del paciente presentado por la paciente gracias al tratamiento propuesto y empleado. La paciente se encuentra sin signos de enfermedad o recaída después de 5 años y 3 meses

Ejemplo 7: Lucha contra un adenocarcinoma acinar grado 7 (4 +3) de Gleason. Adenocarcinoma localizado de próstata estadio T2a.

Datos del paciente

5

Paciente O - S de 69 años de edad, varón.

Diagnóstico inicial

10

Adenocarcinoma prostático acinar grado 7 (4 +3) de Gleason en estadio T2a.

Identificación y resumen de la historia clínica

15

Presentó un aumento de PSA20, con biopsia revelando adenocarcinoma acinar grado 7 (4 +3) de Gleason y estadio T2a. Se remarca que el paciente tenía rinitis alérgica concomitante.

Tratamiento convencional propuesto y realizado

20

Prostatectomía total como forma de cirugía curativa para la enfermedad localizada (confinada a la próstata). Se llevó a cabo el 18/02/2010 sin incidentes.

Resultado del tratamiento convencional realizado y diagnóstico final

25

El diagnóstico final a través del examen anatomopatológico describe la enfermedad con propagación locorregional por adenocarcinoma de la próstata, grado 9 (4 5) de Gleason en estadio TNM 2002 pT3bN0, que afecta a 22% del volumen glandular (volumen del tumor de 11,2 cc) y situado en ambos lóbulos de la glándula. La vesícula seminal izquierda y grasa periprostática infiltradas por el tumor, pero los ganglios linfáticos ilíacos y cuello vesical se muestran libres de neoplasia.

30

Conclusión final: tratamiento quirúrgico ineficaz, una vez que permaneció masa tumoral en la región periprostática comprometiendo la posibilidad de curación propuesta. El tratamiento propuesto fue radioterapia en dos meses y segmento oncológico cada 6 meses durante 5 años.

Evaluación inmunológica antes del tratamiento con DECA

35

En la primera consulta realizada el 09/03/2010, el paciente solicitó evaluación inmunológica y de posibilidad de inmunoterapia para contener la enfermedad antes de la radioterapia que sería realizada en dos meses.

40

En el análisis oncológico de laboratorio de 10/03/2010 se detectó PSA 0,15 compatible con estado del tumor residual por prostatectomía ineficaz (Figura 7).

La evaluación inmunológica previa mostrada por los análisis de sangre de 10/03/2010 reveló lo siguiente:

45

- Perfil TH1 celular compatible con una buena respuesta antitumoral al mostrar anticuerpos en el límite inferior de la normalidad:

Ig G 977 mg / dl (VN = 600 a 1500);

50

Ig A de 233 mg / dl (VN = 50 a 400 mg / dl),

Ig M de 112 mg / dl (VN = 50 a 300 mg / dl)

albúmina de 3,67 g / dl (3,50 a 4, 85 g / dl);

55

gamma globulina de 0,97 g / dl (N = 0,74 a 1,75 g / dl).

- Mecanismo T fenotípicamente normal con:

60

CD4⁺ 846/mm³;

CD8⁺ 504 / mm³;

Relación CD4⁺/ CD8⁺ 1,7.

- Evaluación de la alergia moderada:

Ig E 204 mg / dl (VN \leq 100 mg / dl);

5 Ig E específico para polvo a 1,5 mg / dl

(Clase 2 moderado);

- Evaluación de la autoinmunidad positiva para los siguientes marcadores:

10

ANA nuclear > 1/640;

ANA nucleolar > 1/640;

15 No se realizaron pruebas *in vivo* (hipersensibilidad retardada primaria y secundaria) debido al escaso tiempo restante para inmunoterapia antes de la radioterapia.

Conclusión basada en los exámenes *in vitro*:

20 1. la inmunidad humoral, sistema complemento y mecanismo T se mostraron fenotípicamente normales y sin inmunodeficiencia aparente;

2. perfil celular TH1 propicio para una buena respuesta a la inmunoterapia;

25 3. pruebas funcionales no realizadas, pues no se realizaron pruebas *in vivo*.

Tratamiento propuesto con DECA

El tratamiento con DECA consistió en:

30

- Aplicación de 1,8 ml de la composición de DECA en dos aplicaciones de 0,9 ml próximas a los 10 territorios linfáticos principales.

35

- Margen de 3-4 cm de distancia entre puntos de aplicación para facilitar la lectura de la evolución del tratamiento con intervalo de 4 ± 1 días.

40

- Administración adicional perilesional de 6 formulaciones DECA de 1,8 ml cada una dividida en dos aplicaciones de 0,9 ml cada contorneando las siguientes regiones: superior e inferior del segmento inguinal derecho e izquierdo totalizando 4 formulaciones en estas regiones, así como una formulación suprapúbica y otra formulación en el abdomen inferior (infraumbilical).

45

- Interleucina-2 recombinante humana en dosis bajas en el nivel de saturación de receptor en concentraciones de 1 a 2 millones de unidades por m^2 de superficie corporal ubicadas en la región de los DECA adicionales. Así, en los días del antígeno, administración subcutánea de un millón de unidades en las regiones mencionadas anteriormente.

De esta manera, se optó con el consentimiento de la paciente por el tratamiento de inmunoterapia hasta la fecha de la radioterapia, iniciándose el 11/03/2010 con la primera reevaluación parcial prevista para el 03/04/2010.

50

Primer resultado parcial del tratamiento propuesto con DECA

Después de 4 semanas de tratamiento, la PSA se hizo indetectable (Figura 7), indicando una remisión completa inducida por inmunoterapia, siendo esta aparentemente capaz de eliminar o reducir significativamente la masa tumoral. Por el estado actual de la técnica, no es posible diferenciar la erradicación completa de la masa tumoral con enfermedad residual mínima, mostrando que el tratamiento propuesto con DECA evidenció efecto asombroso.

55

En esta ocasión (03/04/2010) fueron verificados:

IgG 1.070 mg / dl (VN = 600 a 1500);

60

Ig A de 248 mg / dl (VN = 50 a 400 mg / dl);

IgM de 129 mg / dl (VN = 50 a 300 mg / dl);

65

Sistema del complemento completo sin cambios significativos (280 el 10/03/2010 y 281 el 03/04/2010);

Este mantenimiento del sistema complemento también ser constatada en el C3 (de 117 para 115) y C4 (de 76 para 71);

5 albúmina de 3,21 g / dl (3,50 a 4,85 g / dl);
gamma globulina de 1,00 g / dl (VN = 0,74 a 1,75 g / dl).
CD4⁺ 1.075/mm³;
CD8⁺ 537/mm³;
Relación CD4⁺/ CD8⁺ 2,0.
10 Ig E 165 mg / dl (VN ≤ 100 mg / dl);
ANA nuclear > 1/320;
ANA nucleolar > 1/320

Los ensayos *in vivo* (hipersensibilidad retardada secundaria) mostraron:

15 • en la primera aplicación:

los antígenos administrados a distancia de la zona tumoral con resultado de +/++ para todos los antígenos;

20 en la región de los DECAs próximos al área tumoral residual la reacción estaba disminuida presentando una puntuación de +/++ a ++++++ verificando la inmunosupresión tumoral.

• en la segunda aplicación:

25 Los antígenos administrados a distancia del área tumoral se volvieron hiperérgicos con una puntuación de +++/++++ para todos los antígenos;

30 en la región de los DECAs próximos al área tumoral residual se normalizó la reacción, pasando a presentar una puntuación de+++/+++ en +++++ que confirma una reversión de la inmunosupresión causada por la masa tumoral.

• En la tercera aplicación (al inicio de la segunda semana de tratamiento):

35 Los antígenos administrados a distancia del área tumoral se volvieron más hiperérgicos con puntuaciones de ++++/++++ para todos los antígenos;

en la región de los DECAs próximos al área tumoral residual alcanzaron el mismo nivel de actividad (de ++++/++++) verificando una inversión completa de la inmunosupresión local regional de masa residual.

Estas reacciones hiperérgicas siguieron hasta la fecha de la reevaluación de la cuarta semana (03/04/2010).

40 Conclusión del primer resultado parcial del tratamiento propuesto con DECA

45 El paciente inicialmente estaba con inmunidad sistémica preservada con el perfil Th1 celular. Este perfil Th1 celular estaba comprometido en las regiones cercanas al tumor con mecanismo T poco reactivo mostrando inmunosupresión local regional por el tumor.

50 La inmunoterapia volvió la hipersensibilidad retardada secundaria hiperérgica en todos los territorios a distancia del tumor después de la segunda aplicación de DECA y revirtió la inmunosupresión local regional, volviéndose esta región hiperérgica como los demás.

55 Los análisis de sangre corroboraron los resultados del análisis funcional del mecanismo T, mostrando un aumento de las células CD4⁺ ayudantes en números absolutos y relativos y un aumento CD4⁺/CD8⁺ certificando la movilización de células CD4⁺ a nivel sistémico restaurándose la inmunidad celular el paciente. Los análisis de sangre mostraron también una acción específica de la composición DECA exclusivamente sobre la inmunidad celular, pues los anticuerpos y el sistema complemento se mantuvieron sin cambios en la primera fase del tratamiento.

En paralelo se observaron otros beneficios antialérgicos y autoinmunes:

60 • Disminución de los anticuerpos de la clase Ig E acompañada de remisión clínica completa de la rinitis alérgica manifestada en el pacientes como comorbilidad que sugieren una acción antialérgica tratamiento DECA propuesto.

65 • Reducción significativa en la puntuación ANA, que pasó de 1/640 a 1/320 indicio de una probable regresión de la tendencia a la autoinmunidad;

Resultado final del tratamiento propuesto con DECA anterior a la radioterapia

El 27/04/2010 fue realizada la segunda reevaluación parcial cuando el paciente presentaba reacciones hiperérgicas (todos con +++) dolorosas. Dado el resultado de PSA indetectable que se mantuvo hasta febrero de 2012.

5 El tratamiento inmunológico que se inició el 11/03/2010 continuó en vigor hasta el 10/06/2010 (víspera de la radioterapia) por un total de 90 días debiéndose destacar que la remisión completa de la masa tumoral se logró después de 4 semanas y la reversión de la inmunosupresión en 2 semanas.

10 Resultados del tratamiento con DECA

Debido a la remisión completa de un paciente con adenocarcinoma de próstata de grado 9 (4+5) de Gleason y estadificación quirúrgica pT3bN0 con masa tumoral residual postquirúrgica, en 4 semanas, se puede inferir que los resultados son sorprendentes en comparación con el estado de la técnica que considera estos casos como de difícil reversión.

15 Es posible inferir, además, que en este primer mes de tratamiento, la inmunoterapia con DECA demostró capacidad potencial antialérgica (reducción de la IgE asociada con la remisión completa de la rinitis alérgica), y de regresora de tendencia a la autoinmunidad (como se evidencia por una reducción de la titulación a la mitad de los anticuerpos contra elementos nucleares).

Conclusión del caso

25 Estos datos sugieren fuertemente que el tratamiento inmunoterapéutico con DECA, aplicado como monoterapia farmacológica adoptada mientras se aguardaba el inicio de la radioterapia fue eficaz en la remisión completa del tumor locorregional remanente (en 4 semanas) de la prostatectomía, respaldado por la reducción de los niveles de PSA hasta volverse indetectable, lo que representa la erradicación de la masa tumoral, una vez que el estado actual de la técnica no permite diferenciar la erradicación completa de la masa tumoral de la enfermedad residual mínima.

30 Adicionalmente se observó la remisión clínica completa de la rinitis alérgica y mejoría de los niveles de ANA (probablemente mejorando la tendencia a la autoinmunidad).

Ejemplo 8: Lucha contra una septicemia

35 Datos del paciente

Paciente J - P varón de 58 años.

40 Diagnóstico Principal

Septicemia.

Diagnósticos secundarios

45 Politraumatismos con:

- Heridas complejas infectadas con pérdida importante de tejido de aproximadamente 40 cm.
- Extensa necrosis de los tejidos infectada con indicación de amputación de la extremidad inferior izquierda.
- 50 Fractura abierta de grado IIIB infectada con osteomielitis del fémur izquierdo con exposición lateral.
- Heridas abiertas, infectadas corto contusas sin posibilidad de sutura en el brazo izquierdo, dorso de pie izquierdo y región maleolar lateral derecha.

55 Identificación y resumen de la historia clínica

El 12 de enero de 2011 fue admitido en el Centro de Terapia Intensiva del Hospital de Clínicas de Teresópolis Constantino Otaviano, víctima de deslizamiento con fractura abierta del fémur izquierdo de grado III bcon exposiciones de la cara lateral y herida corto contusa medial de 40 cm de extensión que en profundidad que comunicaba con la exposición de la cara lateral. Heridas corto contusas en el brazo izquierdo, dorso del pie izquierdo y región maleolar lateral derecha. Evoluciona en 24 horas con cuadro séptico con la identificación microbiológica de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tratamiento convencional propuesto y realizado

Colocación de fijación externa del fémur, en situación de emergencia, administración de clindamicina, vancomicina y cefepima, asociada a desbridamiento quirúrgico diario.

5

Resultado del tratamiento convencional realizado

10 Inicialmente, mejoró el cuadro séptico seguido de la evolución de la infección de la extremidad inferior izquierda, con extensas áreas de necrosis muscular con alto riesgo de amputación. Tras 15 días de internamiento mostró empeoramiento de la sepsis con episodios febriles de 39 °C, anemia profunda (recibiendo transfusión) y el sustitución de antimicrobianos para Tazocim. El paciente fue trasladado en una UVI móvil aérea a São Paulo, bajo supervisión médica.

15 La conclusión del tratamiento convencional evidenció recaída en la sepsis y aumento de la necrosis de la pierna izquierda con una indicación de amputación.

Tratamiento propuesto con DECA asociado a tratamiento quirúrgico convencional

20 El paciente fue ingresado en la UCI del Hospital Alemão Oswaldo Cruz para el desbridamiento y la aplicación del tratamiento con DECA, que tomó la forma siguiente:

- Aplicación de la formulación DECA de 1,8 ml dividida en 2 aplicaciones de 0,9 ml por formulación próximas a los 10 territorios linfáticos principales.
- 25 • Margen de 3-4 cm de distancia entre puntos de aplicación para facilitar la lectura de la evolución del tratamiento con intervalo de 4±1 días. Estas aplicaciones se hicieron en conjunto con el desbridamiento quirúrgico (en promedio 1 a 2 veces por semana).
- 30 • Administración perilesional de 36 formulaciones DECA extra de 1,8 ml cada una dividida en dos aplicaciones de 0,9 ml por formulación bordeando las siguientes lesiones abiertas sin posibilidad de sutura: región inguinal izquierda, la cara lateral del muslo izquierdo, cara anterior del muslo izquierdo y la cara interna del muslo izquierdo, región del empeine izquierdo y maléolo lateral de la pierna derecha.
- 35 • Interleucina-2 recombinante humana en dosis bajas en el nivel de saturación de receptores en concentración de 1 a 2 millones de unidades por m² de superficie corporal situados en la región de las DECA extras. Para el paciente se utilizaron por 3 millones de unidades subcutáneas diaria en el muslo izquierdo o región inguinal izquierda.
- 40 • En las regiones expuestas se aplicaron 15 formulaciones DECA de 1,8 ml cada una, para la infiltración de las áreas con lesiones expuestas.
- Esta extensa inmunoterapia fue aplicada siempre en el centro quirúrgico en los días de limpieza y el desbridamiento quirúrgico bajo anestesia general.

45 Así, la primera fase de la inmunoterapia se inició el 29/01/2011 y finalizó el 19/03/2011 con un total de nueve aplicaciones de DECA en períodos que variaban de una a dos veces por semana, una vea que seguía la programación de limpieza y desbridamiento en sala de operaciones (debido a la gravedad, al dolor y al alto riesgo de infección por la extensa exposición de los tejidos internos de las zonas herida abierta).

50 Resultados del tratamiento con DECA asociado con desbridamiento quirúrgico y tratamiento antibiótico

La evaluación inicial de las lesiones del paciente en la sala de operaciones en 29/01/2011 mostró todas las heridas sangrantes con muchos coágulos, con extensas áreas de necrosis y pus con mal olor. Tras limpieza quirúrgica el tejido continuó mostrándose vinoso con mal aspecto general sin aparición de tejido de granulación saludable. Como descrito más arriba, la inmunoterapia con DECA fue aplicada en estas áreas. Es interesante mencionar que en esta 55 ocasión se realizaron cultivos de secreciones internas y de fragmentos de tejido.

24 horas después, fue realizada la primera evaluación del tratamiento quirúrgico asociado con la inmunoterapia DECA que mostró: lesiones con enrojecimiento, con aspecto de tejido de granulación sano, con pocas áreas necróticas, con secreción escasa, sin mal olor y sin sangrado activo. Fue realizada limpieza de las lesiones y aplicación de la inmunoterapia DECA conforme a la descripción anterior. En esta ocasión, fue realizado un cambio de la terapia antibiótica de Tazocim a Meronem, Cubicin y rifampicina, mientras se esperaban los resultados de los cultivos.

65 El 01/02/2011 el resultado de los cultivos de las heridas y de la sangre periférica y catéter central mostró:

- En la herida del muslo izquierdo, aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, *Acinetobacter baumannii* multirresistente y sensible sólo a polimixina B, y *Proteus mirabilis* multirresistentes.
- En la sangre periférica y en el catéter central, aislamiento de *Acinetobacter baumannii* multirresistente sensible sólo a polimixina B.

Conclusión: Estos resultados demostraron que la mala evolución de las lesiones de la pierna izquierda, llevaron a un nuevo episodio con sepsis con *Acinetobacter baumannii* y que por ser multirresistente y sólo sensible a la polimixina B, no respondió al tratamiento con Tazocim intravenoso. Por otra parte, sugiere fuertemente un efecto beneficioso de la composición DECA aplicada conjuntamente con el tratamiento quirúrgico en la protección local y sistémica contra esta infección, ya que hubo mejoría en el cuadro de infección sistémica y de las lesiones antes de la aplicación de polimixina B capaz de neutralizar este agente etiológico.

Ese día, Meronem fue sustituido por 20.000 UI / kg en dos administraciones diarias de Polimixina B sin variaciones en los demás medicamentos.

El 03/02/2011 fue verificada la remisión del cuadro séptico con la asociación terapéutica de antibioticoterapia, limpieza quirúrgica e inmunoterapia con DECA, que permitió la transferencia del paciente de la unidad de cuidados intensivos a la sala a partir de ese día.

El 06/02/2011, dada la toxicidad de la administración de Polimixina B y los demás antimicrobianos, el paciente presentó un cuadro de insuficiencia renal aguda con oliguria. Como consecuencia de ello en el período comprendido entre 06/02/2011 y 15/02/2011 (12 días) fue suspendida la administración de estos antibióticos, siendo introducida Limezolid (Zyvox) para protección contra la contaminación hospitalaria estafilocócica. El 15/02/2011 fue constatada la remisión completa de la insuficiencia renal en el paciente. En este período de 12 días, sólo con la terapia combinada de desbridamiento quirúrgico, la profilaxis antibiótica y la inmunoterapia con DECA, el paciente presentó una excelente evolución general del cuadro infeccioso general y de las lesiones, estando, después de este período, apto para retirar el fijador externo, la limpieza quirúrgica y la introducción de la placa interna para la fijación de la fractura por cirugía, realizada el 17/02/2011. Así, en este periodo, conjuntamente con la cirugía ortopédica, hubo una reducción significativa en las zonas con herida abierta sin piel con amplia regeneración de tejidos y sin nuevas infecciones.

El paciente fue dado de alta el 15/03/2011 con curación completa de la infección de todas las lesiones y heridas complejas incluida la osteomielitis. El paciente fue dado de alta sin tratamiento antibiótico.

Conclusión del caso

La existencia de una infección grave generalizada y de una herida compleja infectada con *Acinetobacter baumannii* ión hacia la curación de la sepsis, de todas las lesiones expuestas, de la osteomielitis sugieren fuertemente un papel decisivo de la inmunoterapia con DECA, asociada con desbridamiento quirúrgico y antibioticoterapia, para la cura del cuadro clínico, en relativamente poco tiempo.

Tabla 2. Resultado de la asociación de la inmunoterapia con DECA, antibioticoterapia y desbridamiento quirúrgico para sepsis e infección grave de lesiones complejas.

Regiones afectadas	Cultivos pretratamiento inmunológico (29/01/2011)	Resultado de la asociación de inmunoterapia, antibioticoterapia y desbridamiento quirúrgico (15/03/2011)
Lesión muslo izquierdo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistente, <i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente y sensible sólo a Aztreonam y Polimixina	Ausencia de signos de infección
Sangre periférica	<i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente y sensible sólo a Aztreonam y Polimixina B	Ausencia de signos de infección
Catéter central	<i>Acinetobacter baumannii</i> multirresistente y sensible sólo a Aztreonam y Polimixina B	Ausencia de signos de infección

En suma, los casos clínicos presentados aquí demuestran que las enfermedades y las enfermedades consideradas de alta complejidad y pronóstico oscuros a muy malo cuando fueron analizadas por el conocimiento del estado de la técnica, fueron tratadas de manera diferente, más ventajosa o más eficiente por medio de la utilización de las composiciones de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación inmunogénica que comprende:

- 5 (i) 0,004 ng/ml de turberculina de Koch,
(ii) 0,004 g/ml de derivado proteico purificado de bacilo de Koch (PPD),
(iii) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* a partes iguales,
10 (iv) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de Streptococcus que consiste en *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis* a partes iguales,
(v) 0,444 µg/ml de estreptoquinasa obtenida por purificación a partir de lisado inactivado de Streptococcus beta-hemolítico,
(vi) 0,111 µg/ml de dornasa obtenida por purificación a partir de lisado inactivado de Streptococcus beta-hemolítico,
15 (vii) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de Candida que consiste en *Candida albicans* y *Candida glabrata* a partes iguales,
(viii) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de dermatofitos que consiste en *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis* y *Tricophyton mentagrophytes* de variedades interdigitalee a partes iguales,
(ix) 6,94 µg/ml de lisado e inactivado de *Escherichia coli* enteropatogenica,
20 (x) 6,94 µg/ml de lisado e inactivado de Salmonella que consiste en *Salmonella bongori*, *Salmonella enterica* y *Salmonella subterranea* a partes iguales,
(xi) 7,5 mg/ml de cloruro de sodio,
(xii) 0,48 mg/ml de fosfato de sodio dibásico heptahidratado,
(xiii) 0,06 mg/ml de fosfato de potasio monobásico,
25 (xiv) 2,5 mg/ml de fenol;
(xv) agua; e
IL-2 para su uso en terapia.

2. Una composición inmunogénica que comprende:

- 30 (i) 0,004 ng/ml de turberculina de Koch,
(ii) 0,004 g/ml de derivado proteico purificado de bacilo de Koch (PPD),
(iii) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de lisado inactivado de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* a partes iguales,
35 (iv) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de Streptococcus que consiste en *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis* a partes iguales,
(v) 0,444 µg/ml de estreptoquinasa obtenida por purificación a partir de lisado inactivado de Streptococcus beta-hemolítico,
(vi) 0,111 µg/ml de dornasa obtenida por purificación a partir de lisado inactivado de Streptococcus beta-hemolítico,
40 (vii) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de Candida que consiste en *Candida albicans* y *Candida glabrata* a partes iguales,
(viii) 6,94 µg/ml de lisado inactivado de dermatofitos que consiste en *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis* y *Tricophyton mentagrophytes* de variedades interdigitalee a partes iguales,
45 (ix) 6,94 µg/ml de lisado e inactivado de *Escherichia coli* enteropatogenica,
(x) 6,94 µg/ml de lisado e inactivado de Salmonella que consiste en *Salmonella bongori*, *Salmonella enterica* y *Salmonella subterranea* a partes iguales,
(xi) 7,5 mg/ml de cloruro de sodio,
(xii) 0,48 mg/ml de fosfato de sódio dibásico heptahidratado,
50 (xiii) 0,06 mg/ml de fosfato de potasio monobásico,
(xiv) 2,5 mg/ml de fenol; y
(xv) agua;

para su uso por separado o secuencial en terapia en combinación con IL-2.

55

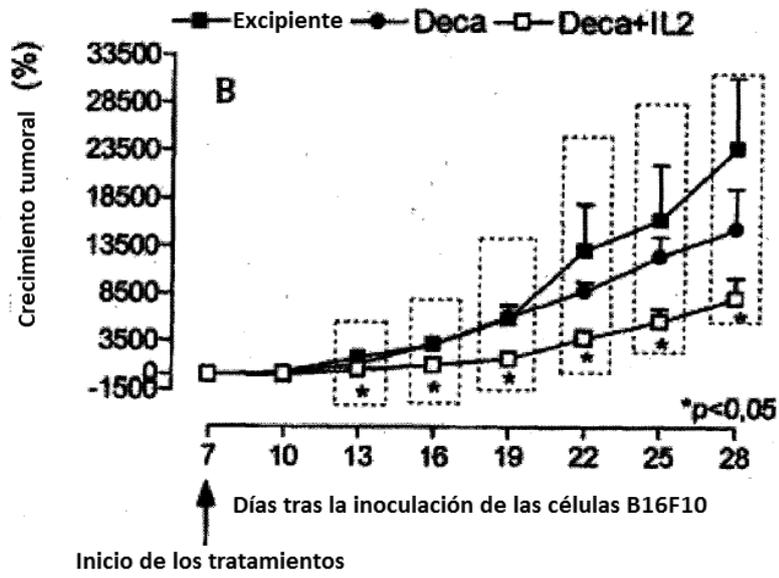
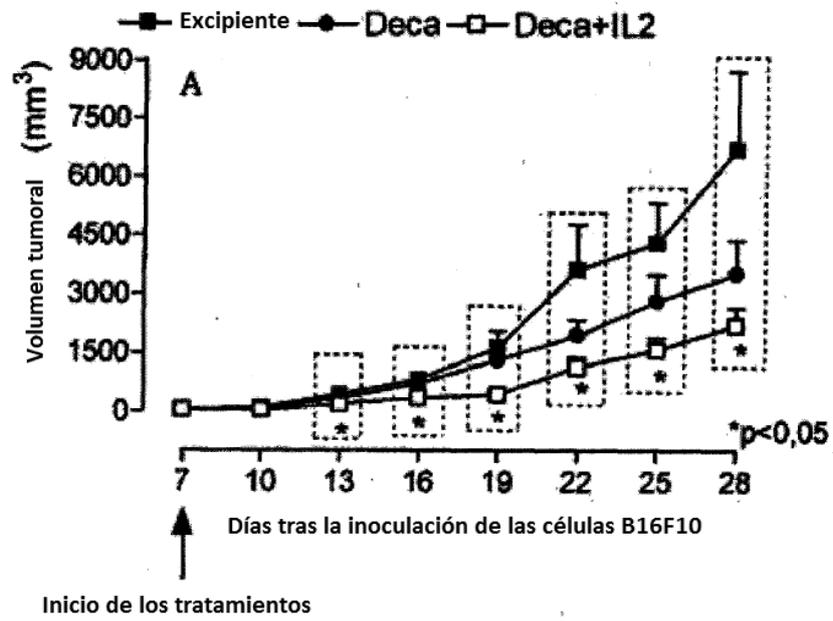


Figura 1

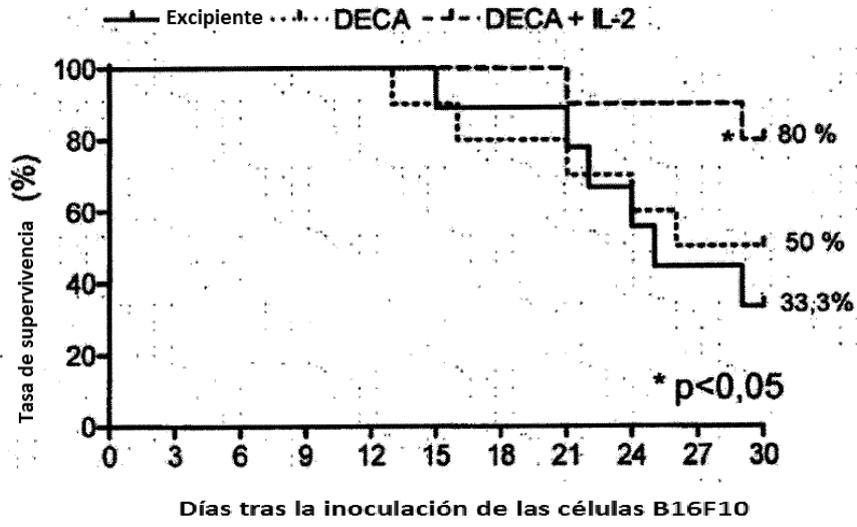


Figura 2



Figura 3



Figura 4

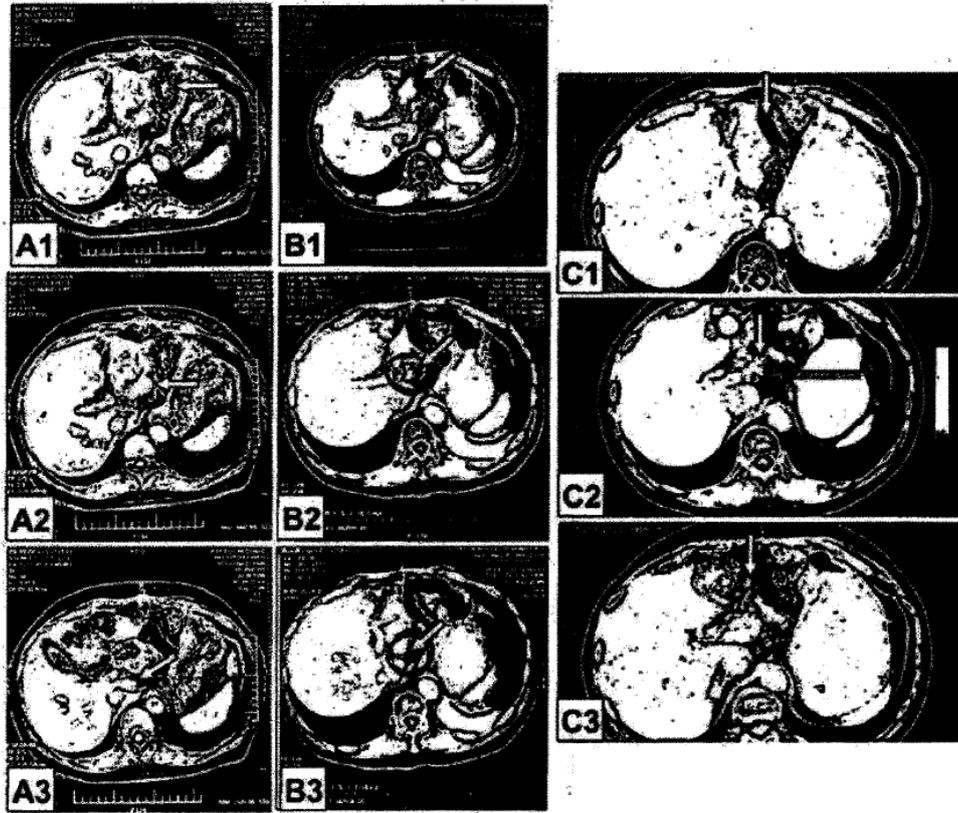


Figura 5

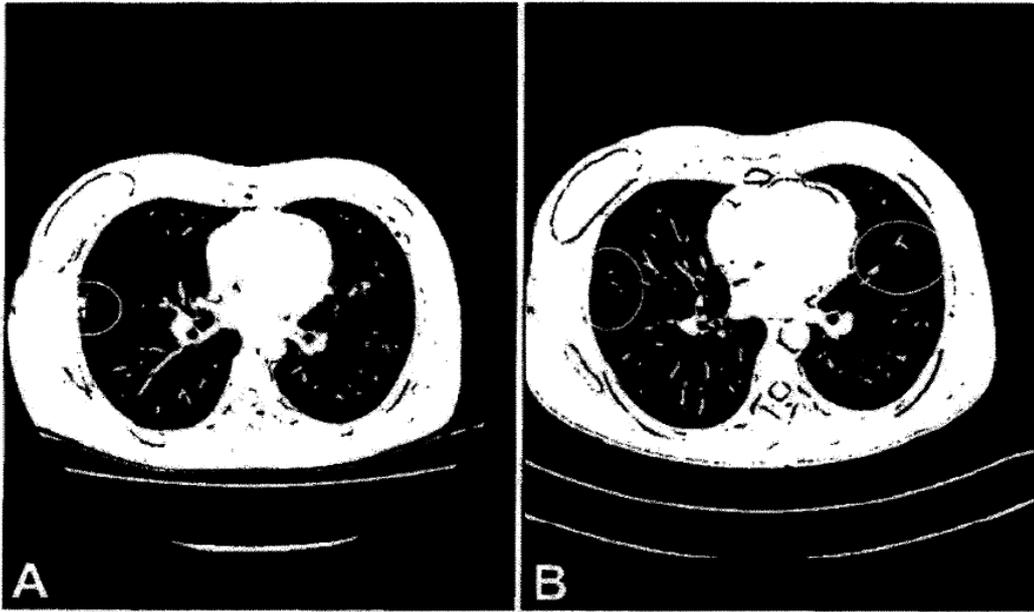


Figura 6

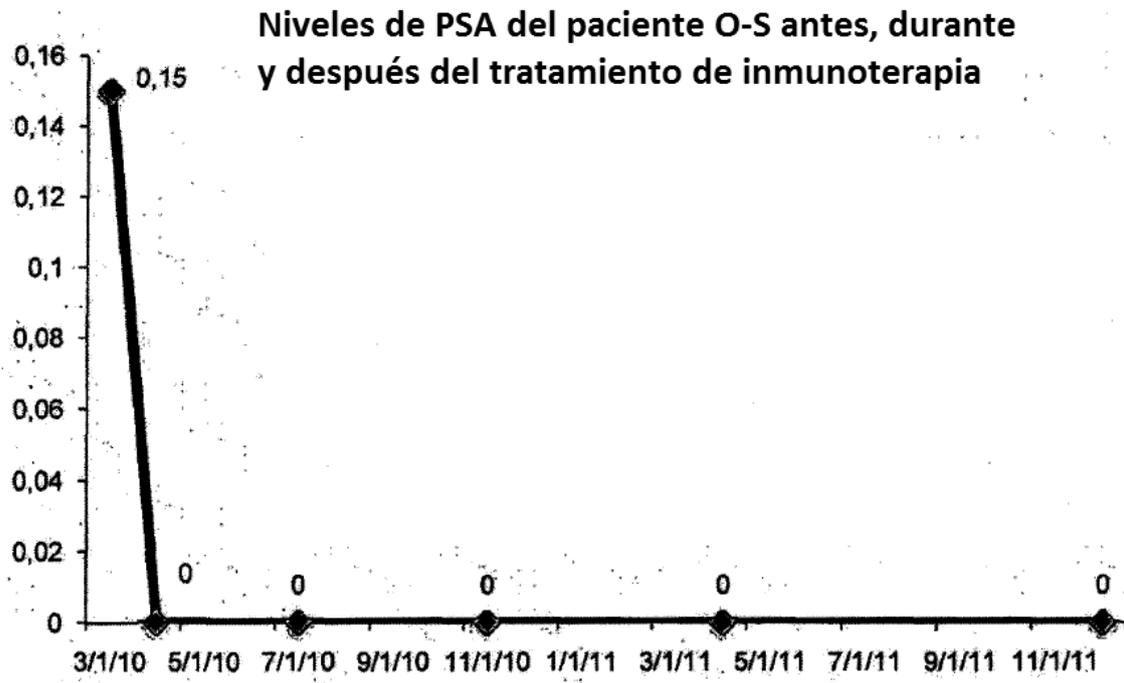


Figura 7