

Métodos y composiciones para la evaluación clínica de agentes terapéuticos

Campo técnico

La descripción se relaciona con el campo del enfoque de sistemas para las
5 respuestas inmunitarias y los efectos del tratamiento, particularmente los métodos de
evaluación clínica de un agente terapéutico en un sujeto sano con una perturbación
inmunitaria inducida que comprende una respuesta inmunitaria distintiva de una
enfermedad de interés.

Antecedentes

10 Actualmente, la mayoría de los primeros estudios en humanos pretenden
evaluar la seguridad y farmacocinética de los nuevos fármacos con menos énfasis en
los efectos farmacodinámicos de los fármacos. En voluntarios humanos sanos,
muchas de las moléculas específicas de la enfermedad no se expresan debido a la
falta de un estímulo inmunitario agudo o crónico (p. ej., autoinmunitario); por lo tanto,
15 el impacto de los fármacos dirigidos a estas moléculas no puede medirse fácilmente.

Las vacunas se han incluido en los primeros estudios clínicos de un agente
terapéutico. Por ejemplo, en un estudio clínico sobre el vedolizumab (un anticuerpo
monoclonal de integrina $\alpha 4\beta 7$), los participantes sanos recibieron una única dosis
intravenosa de vedolizumab, seguido de la vacuna contra el VHB administrada por vía
20 intramuscular y la vacuna contra el cólera administrada por vía oral (Wyant et al., *Gut*.
2015 Jan;64(1):77-83). Se demostró que el vedolizumab no alteró la respuesta al
antígeno del VHB administrado por vía intramuscular, pero redujo la respuesta al
antígeno del cólera administrado por vía oral, lo que demuestra su mecanismo de

acción selectivo del intestino. Sin embargo, el estudio no demostró si la vacuna contra el VHB o la vacuna contra el cólera habían inducido una perturbación inmunitaria que contiene una respuesta inmunitaria distintiva reflectante de la colitis ulcerosa activa moderada a severa, la enfermedad a la que se dirige el vedolizumab. Aunque existen
5 desafíos antigénicos que son capaces de inducir la activación de objetivos inmunológicos, la comprensión de estas respuestas biológicas en el contexto de un entorno de ensayo clínico continúa siendo muy poco comprendida.

Existen limitaciones en los métodos actuales para evaluar la patología de la enfermedad y el mecanismo del fármaco a nivel celular. Por ejemplo, los métodos
10 existentes para evaluar el estado inmunológico dependen de mediciones cualitativas o cuantitativas de las inmunoglobulinas (p. ej., IgG total, IgM, IgA) y proporciones relativas de las poblaciones de células inmunitarias generales (p. ej., CD4, CD8, neutrófilos, monocitos) sin considerar el estado funcional o la especificidad. Los biomarcadores que miden los cambios inmunológicos en estudios anteriores se han
15 restringido en gran medida a ensayos de factores proinflamatorios solubles y expresión génica; mientras que la caracterización fenotípica y funcional de las poblaciones de células inmunitarias ha sido limitada. Un análisis extendido que incorpora características de los parámetros de respuesta inmunitaria funcionales podría ser parte de una estrategia esencial para comprender los procesos patogénicos
20 inmunomediados y medir los efectos de las diferentes modalidades de tratamiento modulador inmunitario. Sin embargo, la medición de los perfiles de las células inmunitarias no está actualmente estandarizada para usar en estudios clínicos.

Existe la necesidad de nuevas tecnologías y enfoques para posibilitar el análisis multidimensional de las respuestas inmunitarias que fortalezcan los enfoques de la medicina de precisión en estudios clínicos.

Breve descripción de la invención

5 De acuerdo con las modalidades de la solicitud, una perturbación inmunitaria que comprende una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad se induce en un sujeto sano y un agente terapéutico de interés se evalúa clínicamente en el sujeto sano con la perturbación inmunitaria.

En un aspecto general, la solicitud se relaciona con un método para identificar
10 un antígeno que provoca una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad, el método comprende:

- (1) administrar al sujeto sano una cantidad eficaz de una composición que comprende un antígeno;
- (2) recolectar una muestra biológica del sujeto sano antes y en múltiples
15 momentos después de la administración de la etapa (1);
- (3) medir los cambios longitudinales a partir del valor de referencia (es decir, antes de la administración de la etapa (1)) en las poblaciones de células inmunitarias y/o en los mediadores inflamatorios en la muestra biológica;
- 20 (4) comparar los cambios longitudinales medidos con la respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad para detectar un efecto de una perturbación inmunitaria inducida por el antígeno en el sujeto sano; y

- (5) identificar el antígeno que provoca la perturbación inmunitaria en el sujeto sano que refleja la respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad.

En otro aspecto general, la solicitud se relaciona con un método para predecir

5 un efecto de un agente terapéutico, el método comprende:

- (1) administrar a un sujeto sano una cantidad eficaz de una composición que comprende un antígeno conocido porque provoca una perturbación inmunitaria en el sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad;
- 10 (2) administrar una composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico al sujeto sano que tiene la perturbación inmunitaria;
- (3) medir un impacto del agente terapéutico en la perturbación inmunitaria en el sujeto sano; y
- (4) predecir el efecto del agente terapéutico en un sujeto que necesita un
- 15 tratamiento de la enfermedad basado en el impacto medido en (3).

En una modalidad de la solicitud, el método comprende además:

- (5) administrar la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico al sujeto que necesita el tratamiento de la enfermedad, y
- (6) evaluar el efecto del agente terapéutico en el sujeto que necesita el
- 20 tratamiento de la enfermedad.

En un aspecto general, la solicitud se relaciona con otro método para predecir un efecto de un agente terapéutico, el método comprende:

- (1) administrar a un sujeto que necesita un tratamiento de una enfermedad una cantidad eficaz de una composición que comprende un antígeno conocido porque provoca una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad;
- 5 (2) recolectar una muestra biológica del sujeto que necesita el tratamiento antes y en múltiples momentos después de la administración de la etapa (1);
- (3) medir los cambios longitudinales a partir del valor de referencia (es decir, antes de la administración de la etapa (1)) en las poblaciones de células inmunitarias y/o en los mediadores inflamatorios en la muestra biológica;
- 10 (4) comparar los cambios longitudinales medidos con la respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad para detectar un efecto de una perturbación inmunitaria inducida por el antígeno en el sujeto que necesita el tratamiento; y
- (5) predecir el efecto del agente terapéutico en el sujeto que necesita el
- 15 tratamiento basado en la perturbación inmunitaria inducida por el antígeno.

En una modalidad de la solicitud, el método comprende además:

- (6) administrar una composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico al sujeto que necesita el tratamiento de la enfermedad, y
- (7) evaluar el efecto del agente terapéutico en el sujeto que necesita el
- 20 tratamiento de la enfermedad.

En otra modalidad de la solicitud, el método comprende además:

(8) medir un impacto del agente terapéutico en la perturbación inmunitaria inducida por el antígeno en el sujeto que necesita el tratamiento para de esta manera evaluar el efecto del agente terapéutico en el sujeto.

En una modalidad, un método de la solicitud se usa en una primera evaluación
5 clínica en humanos de un agente terapéutico para el tratamiento de una enfermedad.

En una modalidad, el efecto de un agente terapéutico en un sujeto, preferentemente un sujeto humano que necesita un tratamiento de una enfermedad, comprende un efecto farmacodinámico, que incluye, pero no se limita a, un efecto bioquímico, fisiológico y/o molecular del agente terapéutico en el sujeto.

10 Preferentemente, el efecto comprende un efecto farmacodinámico clínico seleccionado de al menos una de la eficacia clínica y seguridad del agente terapéutico en el sujeto. El efecto también puede comprender la farmacocinética del agente terapéutico en el sujeto.

Cualquier antígeno adecuado puede usarse en la invención para inducir una
15 perturbación inmunitaria deseable. Preferentemente, el antígeno es una vacuna previamente aprobada para usar en humanos. De acuerdo con una modalidad de la solicitud, el antígeno se selecciona del grupo que consiste en una vacuna antivariólica (p. ej., Imvamune®/Imvanex®), una vacuna contra el herpes (p. ej., Shingrix®), una vacuna contra el zóster (p. ej., Zostavax®), una vacuna antitetánica, una endotoxina de
20 LPS y un desafío antigénico para la piel (tal como CANDIN®, *Candida albicans*).

Otros aspectos, características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción, que incluye la descripción detallada de la invención y sus modalidades preferidas y de las reivindicaciones adjuntas.

Breve descripción de las figuras

El sumario anterior, así como además, la siguiente descripción detallada de la invención, se entenderán mejor cuando se lea junto con las figuras adjuntas. Debe entenderse que la invención no se limita a las modalidades precisas, mostradas en las figuras.

En las figuras:

La Figura 1 muestra que las vacunas pueden resaltar los objetivos inmunitarios/trayectorias de la patogenia de la enfermedad dirigidas a la modulación del fármaco; y

La Figura 2 muestra el diseño del estudio de un estudio clínico de fase 0 para proporcionar un análisis multinivel de respuestas inmunitarias en sujetos humanos sanos administrados con vacunas conocidas.

Descripción detallada de la invención

Distintas publicaciones, artículos y patentes se citan o describen en los antecedentes y a lo largo de toda la descripción; cada una de estas referencias se incorpora en la presente descripción como referencia en su totalidad. La descripción de documentos, actas, materiales, dispositivos, artículos o lo similar que se ha incluido en la presente descripción es para el propósito de proporcionar contexto a la presente invención. Tal descripción no es una admisión de que cualquiera o todos estos asuntos formen parte de la técnica anterior con respecto a cualquier invención descrita o reivindicada.

A menos que se definan de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado como lo entiende comúnmente un experto en la técnica a la que se dirige la invención. De cualquier otra manera, ciertos términos usados en la presente descripción tienen los significados tal como se establecen en la descripción. Todas las patentes, las solicitudes de patente publicadas y publicaciones mencionadas en la presente descripción se incorporan como referencia ya que se describen detalladamente en la presente descripción. Debe destacarse que, como se usa en la presente descripción y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una”, “el” y “la” incluyen los referentes plurales a menos que el contexto indique claramente de cualquier otra manera.

A menos que se indique de cualquier otra manera, cualquier valor numérico, tal como una concentración o un rango de concentración descrito en la presente descripción, debe entenderse como modificado en todos los casos por el término “aproximadamente”. Por lo tanto, un valor numérico incluye, típicamente, $\pm 10\%$ del valor mencionado. Por ejemplo, una dosificación de 100 μg incluye 90 μg a 110 μg .

Como se usa en la presente descripción, el uso de un rango numérico incluye expresamente todos los subrangos posibles, todos los valores numéricos individuales dentro de ese rango, incluidos enteros dentro de dichos rangos y fracciones de los valores a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

5 A lo largo de esta descripción y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo requiera de cualquier otra manera, la palabra “comprender”, y variaciones tales como “comprende” y “que comprende”, se entenderán que implican la inclusión de un número entero indicado o etapa o grupo de números enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o etapa o grupo de
10 número entero o etapa. Cuando se usa en la presente descripción, el término “que comprende” puede sustituirse con el término “que contiene” o “que incluye” o a veces, cuando se usa en la presente descripción, con el término “que tiene”.

 Cuando se usa en la presente descripción, “que consiste en” excluye cualquier elemento, etapa, o ingrediente no especificado en el elemento de la reivindicación.

15 Cuando se usa en la presente descripción, “que consiste esencialmente en” no excluye materiales o etapas que no afectan materialmente a las características básicas y nuevas de la reivindicación. Cualquiera de los términos mencionados anteriormente de “que comprende”, “que contiene”, “que incluye”, y “que tiene”, cuando se usan en la presente descripción en el contexto de un aspecto o modalidad
20 de la invención pueden reemplazarse por el término “que consiste en” o “que consiste esencialmente en” para variar los alcances de la descripción.

 Como se usa en la presente descripción, el término conjuntivo “y/o” entre múltiples elementos mencionados debe entenderse como que abarca tanto las opciones

individuales y las combinadas. Por ejemplo, donde se unen dos elementos con “y/o”, una primera opción se refiere a la aplicabilidad del primer elemento sin el segundo. Una segunda opción se refiere a la aplicabilidad del segundo elemento sin el primero. Una tercera opción se refiere a la aplicabilidad del primer y el segundo elementos juntos. Se entiende que cualquiera de estas opciones cae dentro del significado, y por lo tanto satisfacen el requisito del término “y/o” como se usa en la presente descripción. También se entiende que la aplicabilidad simultánea de más de una de las opciones cae dentro del significado, y por lo tanto satisface el requisito del término “y/o”.

Como se usa en la presente descripción, “sujeto” significa cualquier animal, preferentemente un mamífero, con la máxima preferencia un humano, quien será o a quien se le ha administrado componentes y/o composiciones inmunogénicos de acuerdo con la invención. El término “mamífero” como usa en la presente descripción, abarca cualquier mamífero. Los ejemplos de mamíferos incluyen, pero no se limitan a, vacas, caballos, ovejas, cerdos, gatos, perros, ratones, ratas, conejos, cobayos, primates no humanos (NHP) tales como monos o simios, seres humanos, etc., más particularmente, un humano.

Como se usa en la presente descripción, “una cantidad eficaz” significa una cantidad de un antígeno suficiente para inducir un efecto inmunitario o respuesta inmunitaria deseables en un sujeto que necesita de este. Una cantidad eficaz puede variar dependiendo de una variedad de factores. Por ejemplo, con respecto a “una cantidad eficaz” de una composición que comprende un antígeno usado para inducir una perturbación inmunitaria que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad en un sujeto sano, la cantidad eficaz puede variar dependiendo de factores tales como las condiciones físicas del sujeto, la edad, el peso, la salud, etc.;

la composición particular que comprende el antígeno usado; la enfermedad particular deseada en la que la respuesta inmunitaria distintiva se refleja por la perturbación inmunitaria en el sujeto sano, etc. Un experto en la técnica puede determinar una cantidad eficaz en vista de la presente descripción.

5 En un sujeto sano, el cuerpo mantiene la homeostasis del sistema inmune que permite el mantenimiento y la regulación de la estabilidad y constancia necesarias para mantener un equilibrio inmunitario normal. Una vacunación induce una perturbación inmunitaria, tal como una respuesta inmunitaria primaria que se acumula lentamente y no es muy fuerte. Tras la vacunación, algunos de los linfocitos B
10 detectan el antígeno en la vacuna y se multiplican para producir más clones capaces de secretar anticuerpos particulares contra el antígeno. Por lo tanto, la vacunación aumenta los niveles de anticuerpos circulantes contra el antígeno. Esta respuesta primaria toma un par de semanas para desarrollar la intensidad máxima. Con el tiempo, la respuesta primaria inducida por la vacuna desaparecerá gradualmente; sin
15 embargo, las células de memoria permanecerán después de la vacunación. Tras la infección por un patógeno, se induce una respuesta secundaria, que es más fuerte y más rápida que la respuesta primaria. Las respuestas se resuelven con el tiempo.

 Como se muestra en la Figura 1, las vacunas pueden resaltar los objetivos inmunitarios y/o trayectorias de la patogenia de la enfermedad dirigidos a la modulación del
20 fármaco. Por ejemplo, se conoce que el lupus eritematoso sistémico (SLE, por sus siglas en inglés) se asocia con la desregulación y/o actividad anormal o la función de varios objetivos y/o trayectorias inmunitarias, tales como las células T CD4⁺, células B, respuestas de anticuerpos (Ab), células dendríticas plasmocitoides (pDC), células NK,

células T CD8⁺, interferones tipo I (T1-IFN), etc. Se conoce que las vacunas inducen perturbaciones inmunitarias de los diversos objetivos y/o trayectorias inmunitarios asociados con el SLE, por lo tanto pueden usarse para inducir una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una o más respuestas inmunitarias distintivas del SLE. Por ejemplo, una vacuna de varicela zóster puede usarse para inducir una perturbación inmunitaria en el sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva del SLE que incluye el nivel o actividad de T1-IFN, mientras que una vacuna contra la vaccinia puede usarse para inducir una perturbación inmunitaria en el sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva del SLE que incluye propiedades de una o más de las pDC, células NK y células T CD8⁺. Además, una vacuna antitetánica puede usarse para inducir una perturbación inmunitaria en el sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva del SLE que incluye las propiedades de una o más de las células T CD4⁺, células B y respuestas Ab. En una evaluación clínica de un agente terapéutico para el tratamiento de SLE, puede investigarse el efecto del agente terapéutico en una o más perturbaciones inmunitarias inducidas por las vacunas en un sujeto sano. Los resultados de los estudios clínicos del agente terapéutico en el sujeto sano que tiene una o más perturbaciones inmunitarias inducidas por las vacunas pueden guiar los estudios clínicos del agente terapéutico en un sujeto que necesita un tratamiento de SLE.

Como se usa en la presente descripción, una “perturbación inmunitaria” se refiere a una respuesta del sistema inmune de un sujeto inducida por la administración de una composición que comprende un antígeno o un cambio en el sistema inmune inducido por o asociado con una enfermedad en un sujeto. Por ejemplo, una perturbación inmunitaria puede comprender una respuesta primaria inducida por la administración de un antígeno.

Una perturbación inmunitaria puede también comprender un cambio en el sistema inmune inducido por inflamación, tal como la inflamación crónica, asociada con una enfermedad.

Una perturbación inmunitaria puede comprender además un cambio en una o más trayectorias inmunitarias que están desreguladas en un sujeto que tiene la enfermedad

5 De acuerdo con las modalidades de la solicitud, una perturbación inmunitaria en un sujeto sano inducida por la administración de un antígeno puede reflejar una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad.

Como se usa en la presente descripción, una “respuesta inmunitaria distintiva” se refiere a una distinción celular y/o molecular de inmunidad innata y/o adaptativa
10 durante las etapas efectoras y/o de memoria de las respuestas inmunitarias después de la administración de un antígeno a un sujeto o asociada con una enfermedad en un paciente. Más de una respuesta inmunitaria distintiva puede ser inducida por un antígeno o asociada con una enfermedad.

Como se usa en la presente descripción, una “respuesta inmunitaria distintiva
15 de una enfermedad” se refiere a una respuesta inmunitaria distintiva asociada con la enfermedad observada en un paciente que padece la enfermedad o un sujeto que necesita un tratamiento de la enfermedad. Por ejemplo, una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad puede definirse por una o más de (1) una respuesta inmunitaria que se produce durante la infección aguda o las afecciones inflamatorias
20 crónicas asociadas con la enfermedad en un paciente; o (2) respuestas inmunitarias celulares y solubles localizadas y/o sistémicas asociadas con la enfermedad en un paciente.

Como se usa en la presente descripción, “una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad” se refiere a una perturbación inmunitaria en el sujeto sano que comprende una respuesta inmunitaria distintiva que corresponde a una respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad. Una perturbación inmunitaria en el sujeto sano puede inducirse mediante la administración de un antígeno, tal como una vacuna conocida. Una perturbación inmunitaria que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad puede abarcar toda la duración de la perturbación inmunitaria que define una respuesta inmunitaria distintiva que corresponde a una respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad, p. ej., hasta durante la cual tales respuestas inmunitarias inducidas han retornado a niveles cercanos o sustancialmente al valor de referencia. De acuerdo con las modalidades de la solicitud, una perturbación inmunitaria inducida por un antígeno en un sujeto sano puede reflejar una respuesta inmunitaria distintiva de una o más enfermedades. En otras modalidades de la solicitud, una enfermedad puede tener una o más respuestas inmunitarias distintivas. Uno o más antígenos o vacunas pueden usarse para inducir una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una o más respuestas inmunitarias distintivas de una o más enfermedades.

Un antígeno que provoca una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad puede identificarse usando un método de la invención, que comprende:

- (1) administrar al sujeto sano una cantidad eficaz de una composición que comprende el antígeno;

- (2) recolectar una muestra biológica del sujeto sano antes y en múltiples momentos después de la administración de la etapa (1);
- (3) medir los cambios longitudinales a partir del valor de referencia (es decir, antes de la administración de la etapa (1)) en las poblaciones de células inmunitarias y/o en los mediadores inflamatorios en la muestra biológica;
- (4) comparar los cambios longitudinales medidos con la respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad para detectar un efecto de una perturbación inmunitaria inducida por el antígeno en el sujeto sano; y
- (5) identificar el antígeno que provoca la perturbación inmunitaria en el sujeto sano que refleja la respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad.

Tras la administración, un agente terapéutico puede resultar en un cambio en una perturbación inmunitaria inducida por un antígeno o una enfermedad. Por ejemplo, una perturbación inmunitaria inducida por un antígeno, tal como una vacuna conocida, en un sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad puede modificarse tras la administración de un agente terapéutico para tratar la enfermedad. Un efecto de un agente terapéutico puede predecirse o evaluarse basado en su impacto en la perturbación inmunitaria inducida por el antígeno en el sujeto sano. Por ejemplo, si el agente terapéutico resulta en un acortamiento de la duración de la respuesta de la perturbación inmunitaria, la reducción en la amplitud de la respuesta de la perturbación inmunitaria, y/o de cualquier otra manera una resolución o respuesta mejorada de la perturbación inmunitaria, los cambios pueden indicar o predecir que el agente terapéutico es eficaz para el tratamiento de la enfermedad en un paciente que necesita un tratamiento de la enfermedad. Alternativamente, si el agente terapéutico no

tiene un impacto o un impacto negativo en la resolución o respuesta de la perturbación inmunitaria inducida en el sujeto sano, puede sugerir que el agente terapéutico es ineficaz contra la enfermedad en un paciente.

Por lo tanto, en otro aspecto general, la solicitud se relaciona con un método para predecir un efecto de un agente terapéutico basado en un estudio con un sujeto sano. El método comprende:

- (1) administrar a un sujeto sano una cantidad eficaz de una composición que comprende un antígeno conocido porque provoca una perturbación inmunitaria en el sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad;
- (2) administrar una composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico al sujeto sano que tiene la perturbación inmunitaria;
- (3) medir un impacto del agente terapéutico en la perturbación inmunitaria en el sujeto sano; y
- (4) predecir el efecto del agente terapéutico en un sujeto que necesita un tratamiento de la enfermedad basado en el impacto medido en (3).

De acuerdo con una modalidad de la solicitud, el método comprende administrar diferentes cantidades de la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico al sujeto sano que tiene la perturbación inmunitaria para obtener de esta manera una relación entre la dosificación y la respuesta del agente terapéutico.

Un agente terapéutico que se prevé que sea eficaz contra una enfermedad basado en un estudio con un sujeto sano puede evaluarse aún más en un sujeto que

necesita un tratamiento de una enfermedad. Por lo tanto, en una modalidad de la solicitud, el método comprende además:

- (1) administrar la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico a un sujeto que necesita un tratamiento de la enfermedad, y
- 5 (2) evaluar el efecto del agente terapéutico en el sujeto.

De acuerdo con una modalidad de la solicitud, el método comprende administrar diferentes cantidades de la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico al sujeto que necesita el tratamiento para obtener una relación entre la dosificación y la respuesta del agente terapéutico en el sujeto. Preferentemente, las

10 diferentes cantidades de la composición farmacéutica se seleccionan basadas en la relación entre la dosificación y la respuesta del agente terapéutico en un sujeto sano obtenida usando un método de acuerdo con una modalidad de la solicitud.

Un agente terapéutico puede dirigirse o modular la(s) trayectoria(s) inmunitaria(s) implicada(s) en una o más perturbaciones inmunitarias inducidas por o asociadas con

15 una enfermedad. Un efecto de un agente terapéutico puede evaluarse basado en su regulación de la(s) trayectoria(s) inmunitaria(s). Por ejemplo, si una trayectoria inmunitaria se regula constitutivamente por disminución en un paciente, el paciente puede no responder a un tratamiento con un agente terapéutico dirigido a una trayectoria inmunitaria regulada por incremento. La capacidad de respuesta de un sujeto a un

20 antígeno conocido porque provoca una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad puede usarse para predecir la capacidad de respuesta del sujeto a un tratamiento con un agente terapéutico dirigido a la(s) trayectorias(s) inmunitaria(s) implicada(s) en la perturbación inmunitaria. Por

ejemplo, si el antígeno indujo una perturbación inmunitaria en un paciente que coincide con una respuesta inmunitaria distintiva observada en un sujeto sano tras la administración del antígeno, o si el antígeno indujo una perturbación inmunitaria en el paciente que mejora la perturbación inmunitaria que comprende la respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad, la perturbación inmunitaria inducida puede indicar o predecir que el agente terapéutico es eficaz para el tratamiento de la enfermedad en el paciente. Alternativamente, si el antígeno no tiene impacto o no induce una perturbación inmunitaria deseada en un paciente que necesita un tratamiento de una enfermedad, puede sugerir que el agente terapéutico es ineficaz contra la enfermedad en el paciente.

En consecuencia, otro aspecto de la solicitud se relaciona con un método para predecir un efecto de un agente terapéutico en un sujeto que necesita un tratamiento de una enfermedad, que comprende:

- (1) administrar al sujeto que necesita el tratamiento una cantidad eficaz de una composición que comprende un antígeno conocido porque provoca una perturbación inmunitaria en un sujeto sano que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad;
- (2) recolectar una muestra biológica del sujeto que necesita el tratamiento antes y en múltiples momentos después de la administración de la etapa (1);
- (3) medir los cambios longitudinales a partir del valor de referencia (es decir, antes de la administración de la etapa (1)) en las poblaciones de células inmunitarias y/o en los mediadores inflamatorios en la muestra biológica;
- (4) comparar los cambios longitudinales medidos con la respuesta inmunitaria distintiva de la enfermedad para detectar un efecto de una

perturbación inmunitaria inducida por el antígeno en el sujeto que necesita el tratamiento; y

- (5) predecir el efecto del agente terapéutico en el sujeto que necesita el tratamiento basado en la perturbación inmunitaria inducida por el antígeno.

5 El efecto previsto del agente terapéutico puede verificarse mediante la administración del agente terapéutico al sujeto. Por lo tanto, en una modalidad de la solicitud, el método comprende además:

- (1) administrar una composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico al sujeto que necesita el tratamiento de la enfermedad, y
- 10 (2) evaluar el efecto del agente terapéutico en el sujeto que necesita el tratamiento de la enfermedad.

De acuerdo con una modalidad de la solicitud, el método comprende además medir un impacto del agente terapéutico en la perturbación inmunitaria inducida por el antígeno en el sujeto que necesita el tratamiento para de esta manera evaluar el

15 efecto del agente terapéutico en el sujeto.

Las tecnologías o los métodos conocidos en la técnica pueden usarse para identificar los mecanismos moleculares claves de la inmunidad innata y adaptativa durante las etapas efectoras y de memoria de las respuestas inmunitarias después de la vacunación para obtener de esta manera una respuesta inmunitaria distintiva de una

20 enfermedad en un sujeto sano administrado con un antígeno o una vacuna (ver, p. ej., Haks et al., *Front Immunol.* 2017; 8: 1563. publicado en línea el 15 de noviembre de 2017). Por ejemplo, un ensayo de perfilado transcriptómico múltiple extendido, tal como una amplificación de sonda dependiente de ligandos múltiple de transcripción inversa

de doble color (dcRT-MLPA, por sus siglas en inglés), puede usarse para bioperfilar la respuesta inmunitaria humana después de la vacunación contra enfermedades infecciosas humanas, con particular énfasis en las distinciones transcriptómicas de las respuestas innatas, adaptativas, reguladoras, inflamatorias y de memoria. La

5 determinación de las respuestas óptimas y las mediciones densas de la respuesta transcriptómica cinética será útil para optimizar nuevas estrategias de inmunización. Los análisis transcriptómicos, tales como los perfiles transcriptómicos globales de la expresión génica (el ARNm así como también el microARN), después de la vacunación con una vacuna, pueden usarse para diseccionar los mecanismos novedosos y

10 correlacionar la inmunidad y seguridad, con particular énfasis en la edad y los cambios temporales después de la vacunación. Los perfiles proteómicos cuantitativos que usan tecnologías de plataforma, tales como el intercambio hidrógeno-deuterio (HDX, por sus siglas en inglés) acoplado a una espectrometría de masa (MS, por sus siglas en inglés), pueden usarse para definir los epítomos funcionalmente activos y anticuerpos

15 en sueros policlonales después de la vacunación. Las células T y células B de memoria específicas de antígeno y su capacidad para migrar a los sitios de tejido correctos pueden también analizarse usando métodos conocidos en la técnica, en vista de la presente descripción. Puede usarse una combinación de enfoques experimentales (estimulación antigénica, secuenciación profunda de TCR y clonación de los

20 subconjuntos de memoria Th1, Th2 y Th17) para la disección de las respuestas del subconjunto de las células T. También pueden evaluarse los mecanismos moleculares que regulan el tráfico de las células T en sitios mucosos en la salud y enfermedad, la migración de las células T en respuesta a las quimocinas (tales como CCL20, CXCL10

y CXCL12), así como la capacidad de las células Th para alcanzar nichos mucosos para apoyar la maduración y actividad funcional celular, particularmente en los individuos que experimentan una activación inmunitaria crónica.

En una modalidad de la solicitud, la perturbación inmunitaria inducida en un
5 sujeto sano comprende un cambio en una o más trayectorias inmunitarias que se conoce que están desreguladas en un sujeto que tiene la enfermedad.

En otra modalidad de la solicitud, la perturbación inmunitaria inducida en un
sujeto sano comprende un cambio en una o más poblaciones de células inmunitarias
que se conoce que están asociadas con la enfermedad en un sujeto que tiene la
10 enfermedad. Los perfiles de la célula inmunitaria pueden estudiarse y monitorearse
usando métodos conocidos en la técnica en vista de la presente descripción.

En aún otra modalidad de la solicitud, la perturbación inmunitaria inducida en
un sujeto sano comprende un cambio en uno o más mediadores inflamatorios que se
conoce que están asociados con la enfermedad en un sujeto que tiene la enfermedad.
15 El nivel y/o la actividad de un mediador inflamatorio puede estudiarse y monitorearse
usando métodos conocidos en la técnica en vista de la presente descripción.

En una modalidad adicional de la solicitud, la perturbación inmunitaria inducida
en un sujeto sano comprende un cambio en la expresión y/o las actividades de uno o
más biomarcadores que se conoce que están asociados con la enfermedad en un
20 sujeto que tiene la enfermedad. Los métodos conocidos en la técnica pueden usarse
para estudiar y monitorear los biomarcadores de interés.

Puede usarse cualquier antígeno adecuado para inducir una perturbación
inmunitaria que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad en un

sujeto sano. Preferentemente, se elige una vacuna o un desafío antigénico basado en las siguientes consideraciones: 1) el uso aprobado y registro de seguridad, 2) la capacidad para activar múltiples trayectorias inmunitarias a la vez o para estimular células inmunitarias específicas y trayectos de interés, y/o 3) la capacidad para

5 activar las respuestas en los sitios periféricos o mucosos.

En una modalidad, una vacuna contra una enfermedad infecciosa humana se usa para inducir una perturbación inmunitaria que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad en un sujeto sano. Los ejemplos de tales vacunas incluyen, pero no se limitan a, una vacuna contra la vaccinia (antivariólica) (p. ej.,

10 Imvamune®/Imvanex®), una vacuna contra el herpes (p. ej., Shingrix®), una vacuna contra el zóster (p. ej., Zostavax®) y una vacuna antitetánica.

En otra modalidad, un desafío de endotoxina, tal como la endotoxina de lipopolisacáridos (LPS), se usa para inducir una perturbación inmunitaria que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad en un sujeto sano. El desafío

15 de endotoxina se ha usado de manera segura durante décadas para provocar respuestas inmunitarias que imitan aquellas que se producen durante la infección aguda o en las afecciones inflamatorias crónicas (Dillingh et al., *J of Inflammation* 2014, Kiers et al., *Sci Reports* 2017).

En otra modalidad, un desafío antigénico para la piel, tal como CANDIN®

20 (*Candida albicans*), se usa para inducir una perturbación inmunitaria que refleja una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad en un sujeto sano. Los desafíos antigénicos para la piel se han usado por mucho tiempo para evaluar la estimulación del antígeno iniciada por el tejido de las respuestas inmunitarias celulares y solubles

localizadas y sistémicas. Estos tipos de desafíos del sistema inmune pueden proporcionar información sobre el rango esperado de respuestas inmunitarias normales en individuos sanos y como tales sirven como base para la comparación con la inmunidad funcional específica para el antígeno que puede alterarse en enfermedades autoinmunitarias o por agentes de fármacos dirigidos a trayectorias inmunitarias específicas (Lynn et al., *J of Pharm and Exp Ther*, 2004).

En una modalidad de la solicitud, la muestra biológica recolectada del sujeto sano es una muestra de sangre periférica. Preferentemente, la muestra biológica comprende células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés). En otra modalidad, la muestra biológica es una muestra de tejido. Puede usarse cualquier método conocido para recolectar la muestra biológica del sujeto sano.

Las muestras biológicas se recolectan del sujeto sano antes de la administración del antígeno o la vacuna y en diversos momentos después de la administración. Preferentemente, las muestras biológicas se recolectan del sujeto sano en el día 0, antes de la administración del antígeno o la vacuna y en el día 1, 3, 7, 14, 21, 28..... hasta 90 días después de la administración del antígeno o la vacuna.

Los cambios longitudinales posteriores a la perturbación en las poblaciones inmunitarias celulares incluyen, pero no se limitan a, cambios en el fenotipo de acuerdo con los antígenos de la superficie de la célula asociados con el estado de activación y otros atributos funcionales. Las células inmunitarias incluyen células del sistema inmune innato así como células del sistema inmune adaptativo. Los ejemplos de las células inmunitarias incluyen, pero no se limitan a, los linfocitos citolíticos espontáneos

(NK, por sus siglas en inglés), los eosinófilos y las células dendríticas (DC, por sus siglas en inglés), los neutrófilos, los macrófagos, las células B y células T.

Los cambios en los mediadores inflamatorios incluyen, pero no se limitan a, cambios en la cantidad y/o actividad de cualquier mediador bioquímico liberado durante la inflamación. Los ejemplos de mediadores inflamatorios incluyen, pero no se limitan a, las citocinas, las quimocinas, las aminas vasoactivas (tales como la histamina y serotonina), las quininas (tales como la bradiquinina), los eicosanoides (tales como los tromboxanos, los leucotrienos y las prostaglandinas), los péptidos de complemento y derivados del complemento, etc.

De acuerdo con las modalidades de la solicitud, las vacunas o los antígenos se usan para inducir una respuesta inmunitaria en un sujeto sano que comprende una respuesta inmunitaria distintiva reflectante de la fisiopatología de una enfermedad, y el efecto de un agente terapéutico, preferentemente una inmunoterapia, para tratar una enfermedad de interés se evalúa clínicamente mediante la medición de un efecto del agente terapéutico en la respuesta a la perturbación inmunitaria en el sujeto sano. La inclusión de vacunas en los primeros estudios clínicos en sujetos sanos ayuda a definir el valor de referencia individual y las respuestas inmunitarias distintivas para informar sobre la respuesta al agente terapéutico (p. ej., inmunoterapia) en sujetos que necesitan el tratamiento; informar sobre el mecanismo de acción del agente terapéutico; evaluar los umbrales de respuesta inmunitaria; o apoyar la toma de decisiones durante las primeras fases de desarrollo antes de la ejecución de estudios clínicos más amplios.

Por lo tanto, a diferencia de la mayoría de los primeros estudios en humanos destinados a evaluar la seguridad y farmacocinética de los nuevos fármacos con menos

énfasis en los efectos farmacodinámicos del fármaco, un método de acuerdo con una modalidad de la solicitud permite que un primer estudio en humanos de un agente terapéutico también evalúe los efectos farmacodinámicos del fármaco terapéutico. Por ejemplo, puede estudiarse una relación dosificación-respuesta del agente terapéutico en un primer estudio en humanos con sujetos humanos sanos que tienen una perturbación inmunitaria inducida que comprende una respuesta inmunitaria distintiva reflectante de la fisiopatología de la enfermedad, antes de la ejecución de estudios adicionales con pacientes o sujetos humanos que necesitan un tratamiento de la enfermedad.

Se ha usado las vacunaciones o los desafíos antigénicos para establecer el umbral de la respuesta inmunitaria o el inmunoscore de un individuo (Tsang JS Trends in Immunology 36:, 2015, Furman D y Davis MM, Vaccine 33:5271, 2015, Boyd, SD y Jackson, KJL Cell Host and Microbe, 17:301, 2015, Kaczorowski, KJ et al. PNAS, 2017). En vista de la presente descripción, puede usarse una vacunación o desafío antigénico para inducir en un sujeto sano una perturbación inmunitaria que comprende una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad. Esta perturbación inmunitaria inducida tiene un valor predictivo potencial para evaluar la capacidad de respuesta a un agente modulador inmunitario. Además, la vacuna o los desafíos antigénicos pueden usarse prácticamente para evaluar las respuestas de los biomarcadores en los ensayos clínicos de los inmunomoduladores nuevos, con una utilidad potencial para evaluar el acoplamiento objetivo del inmunomodulador y recolectar evidencia de la prueba del mecanismo (POM, por sus siglas en inglés).

Una perturbación inmunitaria puede medirse y/o monitorearse usando los métodos en la técnica en vista de la presente descripción. La capacidad de un antígeno o

una vacuna para inducir o estimular una respuesta inmunitaria en un organismo animal o humano puede evaluarse *in vitro* o *in vivo* usando una variedad de ensayos que son estándar en la técnica. Para una descripción general de las técnicas disponibles para evaluar el inicio y la activación de una respuesta inmunitaria, ver por ejemplo Coligan et al. (1992 y 1994, Current Protocols in Immunology; Ed. J Wiley & Sons Inc, National Institute of Health). La medición de la inmunidad celular puede realizarse por la medición de los perfiles de citocinas secretadas por las células efectoras activadas que incluyen aquellas derivadas de las células T CD4+ y CD8+ (p. ej., la cuantificación de células productoras de IL-10 o IFN gamma por ELISPOT), mediante la determinación del estado de activación de las células efectoras inmunitarias (p. ej., los ensayos de proliferación de las células T mediante ensayos basados en una clásica captación de timidina [³H] o una citometría de flujo), mediante el ensayo de linfocitos T específicos de antígeno en un sujeto sensibilizado (p. ej., lisis específica de péptido en un ensayo de citotoxicidad, etc.).

La capacidad de un antígeno o una vacuna para estimular una respuesta celular y/o humoral puede determinarse por la unión y/o competencia de anticuerpos en la unión (ver por ejemplo Harlow, 1989, Antibodies, Cold Spring Harbor Press). Por ejemplo, los títulos de los anticuerpos producidos en respuesta a la administración de una composición que proporciona un inmunógeno pueden medirse por un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés). Las respuestas inmunitarias también pueden medirse mediante el ensayo de un anticuerpo neutralizante, donde una neutralización de un virus se define como la pérdida de patogenicidad a través de la reacción/inhibición/neutralización del virus con un anticuerpo específico. La

respuesta inmunitaria puede medirse aún más mediante el ensayo de fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP, por sus siglas en inglés).

Puede usarse cualquier método computacional para monitorear los cambios en las respuestas inmunitarias medidas en el transcurso del tiempo. Por ejemplo, se usa el método computacional *Looper* para analizar la medición de los umbrales de respuesta inmunitaria *in vivo* de un individuo y por lo tanto proporcionar una métrica cualitativa en la cual puede evaluarse la probabilidad de respuesta y recuperación a una perturbación inmunitaria particular (Rath et al., Predicting position along a looping immune response trajectory, PLoS One, octubre de 2018, cuyo contenido relevante se incorpora en la presente descripción como referencia). De acuerdo con una modalidad de la solicitud, el *Looper* se usa para analizar una perturbación inmunitaria inducida por la vacunación en un sujeto sano.

Pueden considerarse varios parámetros cuando se determina el umbral de la respuesta inmunitaria de un individuo que incluye biomarcadores estáticos (p. ej., la expresión PD1 *in situ*, la distinción de IFN) así como las respuestas funcionales a los desafíos inmunitarios sistémicos (p. ej., la infección antiinfluenza o respuesta a la vacuna contra la influenza). En el campo de la inmunología de los sistemas, el uso de perturbaciones específicas para medir los rangos variados de las respuestas se combina con las lecturas de los biomarcadores estáticos para definir un “immunoscore” descriptivo. Por lo tanto, un individuo puede tener una puntuación alta o baja dependiendo del estado fisiológico del valor de referencia o la capacidad de respuesta. Después, este immunoscore puede considerarse posteriormente para la estratificación del tratamiento y el monitoreo de la respuesta del tratamiento, o la

inscripción en un estudio clínico de sujetos que necesitan el tratamiento de una enfermedad (Farsaci, B et al., *Cancer Immunol Res*, 4:755-765, 2016). De acuerdo con una modalidad de la solicitud, los subconjuntos de las células inmunitarias dentro de las células mononucleares de la sangre periférica en el sujeto sano con la

5 perturbación inmunitaria inducida pueden analizarse para determinar si un “immunoscore periférico” similar al de Farsaci, B et al., podría incluirse en la respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad.

De acuerdo con una modalidad de la solicitud, las PBMC se aíslan del sujeto antes y después de la administración del antígeno para evaluar las poblaciones celulares

10 y las respuestas inmunitarias funcionales específicas del antígeno. Las PBMC se dividen según los tipos de sujeto (p. ej., sano vs. paciente), según los desafíos inmunitarios (p. ej., con o sin vacunación o tipos de vacuna administradas) y según los agentes terapéuticos evaluados (p. ej., modulador inmunitario objetivo vs. inhibidor de punto de control). Después, las muestras de PBMC pueden incorporarse en futuros estudios como

15 controles o para interrogar otras preguntas específicas sobre el inmunitario objetivo por el agente terapéutico que se evalúa en los ensayos clínicos. Al sujeto sano se le administra un antígeno seleccionado del grupo que consiste en: la Immvamune® (vacuna antivariólica), la Shingrix® (vacuna contra el herpes zóster), la endotoxina (LPS *E. coli*), la *Candida albicans*, el toxoide tetánico y la hemocianina de *Megathura crenulata* (KLH,

20 por sus siglas en inglés). Los paneles de los biomarcadores se miden en PBMC. Los marcadores incluyen, p. ej., paneles de marcadores fenotípicos y funcionales específicos de células inmunitarias que pueden evaluarse mediante una citometría de flujo multiparamétrica o CyTof además de otros tipos de ensayos funcionales que evalúan la

producción de anticuerpos y citocinas. También se obtienen datos transcripcionales que incluyen el uso de ARNseq de célula única a partir de PBMC aisladas. Una o más respuestas inmunitarias distintivas de una enfermedad de interés pueden identificarse basadas en las mediciones de los marcadores y la comparación con los marcadores que se conoce que están asociados con la enfermedad. Un efecto de un agente terapéutico en la enfermedad se evalúa basado en las mediciones del efecto del agente en las respuesta inmunitarias distintivas de una enfermedad.

Los métodos de la solicitud pueden usarse para la evaluación clínica de cualquier agente terapéutico adecuado para tratar una enfermedad de interés en un sujeto que necesite de esta. Preferentemente, el agente terapéutico es un modulador inmunitario. En algunas modalidades de la solicitud, el agente terapéutico es un modulador inmunitario objetivo, tal como uno previsto para el tratamiento de la artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o psoriasis en placas.

En la presente descripción también se proporciona un kit para la evaluación clínica de un agente terapéutico. El kit comprende una composición que comprende un antígeno para usar en la inducción de una perturbación inmunitaria que comprende una respuesta inmunitaria distintiva de una enfermedad en un sujeto sano y una composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico. El kit también puede comprender uno o más antígenos o vacunas adicionales, adyuvantes o estimulantes inmunitarios. El kit puede contener además instrucciones sobre el uso de la composición que comprende el antígeno y la composición farmacéutica en un estudio clínico de acuerdo con un método de la solicitud. Preferentemente, la composición que comprende el antígeno se selecciona

del grupo que consiste en una vacuna contra una enfermedad infecciosa humana, preferentemente una vacuna antivariólica no replicante, una vacuna contra el herpes zóster, una vacuna contra el herpes inactivada o una vacuna antitetánica; un desafío antigénico para la piel, preferentemente un antígeno *Candida albicans*; y una endotoxina, preferentemente un lipopolisacárido (LPS). Con mayor preferencia, la composición farmacéutica comprende un modulador inmunitario como un ingrediente activo, preferentemente un modulador inmunitario objetivo o un inhibidor de punto de control.

Los siguientes ejemplos de la solicitud son para ilustrar aún más la naturaleza de la solicitud. Debe entenderse que los siguientes ejemplos no limitan la invención y el alcance de la invención debe determinarse mediante las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1

Análisis multinivel de las respuestas inmunitarias humanas inducidas por una vacuna

Para determinar la utilidad de las vacunas u otros desafíos antigénicos/metabólicos como las perturbaciones fisiológicas que pueden usarse en futuros estudios de voluntarios humanos de fase 1 o fase 2, se realiza una evaluación para confirmar el curso temporal y el rango de respuestas específicas de la vacuna/el antígeno. Esto también identificará una o más respuestas inmunitarias distintivas para una enfermedad de interés. El estudio también permitirá la evaluación de los tipos de herramientas de análisis que pueden considerarse prácticamente para usar en futuros estudios clínicos en humanos.

MATERIALES y MÉTODOS

Este es un estudio exploratorio unicéntrico de fase 0 en voluntarios adultos sanos para evaluar el efecto de 2 vacunas y 2 agentes de desafío antigénico en las respuestas inmunitarias sistémicas y el tejido localizado, según corresponda. Cada sujeto servirá como su propio control para la comparación de la población celular del valor de referencia y las respuestas del mediador inflamatorio. El final del estudio se producirá en el momento de la última recolección de la muestra definido para cada cohorte (hasta 90 días) (ver la Figura 3).

Como se muestra en la Tabla 1, se usarán vacunas comercialmente disponibles, Imvamune®/Imvanex® (Bavarian Nordic) y Shingrix® (GSK). Se usará una solución de prueba de alérgenos disponible comercialmente para la inyección de antígenos *Candida albicans* para la piel y para la inducción de reacciones cutáneas. Se usará una endotoxina de LPS comercialmente disponible para el desafío intravenoso con endotoxina.

Tabla 1

Cohorte	Intervención	Dosis	Recolecciones de muestras	Ubicación del muestreo
1	Imvamune®/Imvanex®	Inyección IM única	Estudio, D-1, D1, 3, 7, 14, 30, 90	Sangre periférica
2	Shingrix®	Inyección IM única	Estudio, D-1, D1, 3, 7, 14, 30, 90	Sangre periférica
3	Endotoxina de LPS	Inyección IV única	Estudio, D-1, D1 (Q2 horas x 12 horas), D3, 30, 90	Sangre periférica
4	Candin®	Inyección intradérmica única	Estudio, D-1, D1, 3, 7, 14	Sangre periférica, espécimen de la biopsia del tejido en el sitio de la inyección

Los objetivos y criterios de valoración del estudio se describen en la Tabla 2 más abajo.

Tabla 2.

Objetivos:	Evaluaciones
Primario	
Caracterizar la respuesta inmunitaria in vivo usando las vacunas y desafíos al antígeno aprobados para estimular el sistema inmune.	El cambio longitudinal a partir del valor de referencia de las poblaciones de células inmunitarias, los cambios asociados en el fenotipo de antígeno de la superficie celular, el estado de activación y la expresión de mediadores inflamatorios medidos en muestras de sangre periférica o tejidos de voluntarios sanos.
Secundario	
Evaluar la variabilidad intraindividual e interindividual en las respuestas inmunitarias del mediador celular e inflamatorio en un individuo sano o en una cohorte de individuos sanos.	Desviación estándar de los cambios en los criterios de valoración mencionados anteriormente dentro de un participante y entre participantes en una cohorte.
Determinar si hay características del valor de referencia de los participantes que predicen las respuestas a los diversos desafíos.	Las similitudes en las poblaciones de células inmunitarias, los mediadores inflamatorios y sus características en el valor de referencia en una cohorte o cohortes múltiples se medirán mediante ensayos fenotípicos y funcionales.
Exploratorio	
Evaluar la viabilidad del uso de dispositivos de actigrafía en voluntarios sanos en un estudio clínico	La tolerancia del participante y el cumplimiento con un dispositivo de sueño y de actigrafía, y la medición de la variabilidad en las respuestas de acuerdo con los sensores digitales.

5 RESULTADOS

Se recolectarán las muestras de sangre de los participantes para el análisis de la respuesta inmunitaria a los diferentes agentes de desafío, que incluyen anticuerpos específicos para antígenos, respuestas celulares y cambios en los mediadores

inflamatorios. Los análisis realizados en estas muestras pretenden proporcionar información sobre el impacto en los sistemas inmunológicos, hematológicos y de otros órganos, y/o la función general del sistema inmune y la variabilidad interindividual en la respuesta. La detección y caracterización de los anticuerpos específicos para el agente de desafío, las respuestas celulares y los mediadores inflamatorios solubles se mediarán usando métodos de inmunoensayo validados, específicos y sensibles. Se recolectarán muestras de sangre farmacogenómicas para permitir la extracción de ADN y el análisis de marcadores genéticos y epigenéticos que son relevantes para las trayectorias inmunitarias específicas del desafío al antígeno. El análisis puede incluir pruebas completas de todo el genoma y/o una secuenciación objetiva.

Se entiende que los ejemplos y las modalidades descritas en la presente descripción son solamente para propósitos ilustrativos y que podrían realizarse cambios a las modalidades descritas anteriormente sin apartarse del amplio concepto inventivo de estas. Por lo tanto, se entiende que esta invención no se limita a las modalidades particulares descritas, sino que se pretende que cubra modificaciones dentro del espíritu y alcance de la presente invención como se define mediante las reivindicaciones adjuntas.