



## TÍTULO DE PATENTE NO. 287426

**Titular(es):** 4LIFE RESEARCH, LC

**Domicilio(s):** 9850 South 300 West, Sandy Utah, 84070-3262, E.U.A.

**Denominación:** COMPOSICIONES QUE CONTIENEN EXTRACTOS DE DIFERENTES FUENTES ANIMALES Y MÉTODOS PARA PREPARAR LAS COMPOSICIONES.

**Clasificación:** Int.CI.8: A61J3/07; A61K35/02; A61K35/24; A61K39/395

**Inventor(es):** DAVID LISONBEE; WILLIAM J. HENNEN; F. JOSEPH DAUGHERTY

### SOLICITUD

**Número:**

MX/a/2009/009029

**Fecha de presentación internacional:**

15 de Septiembre de 2004

**Divisional de la Patente Número:** 273010

### PRIORIDAD

**País:**

US

**Fecha:**

15 de septiembre de 2003

**Número:**

10/663,353

**Vigencia:** Veinte años

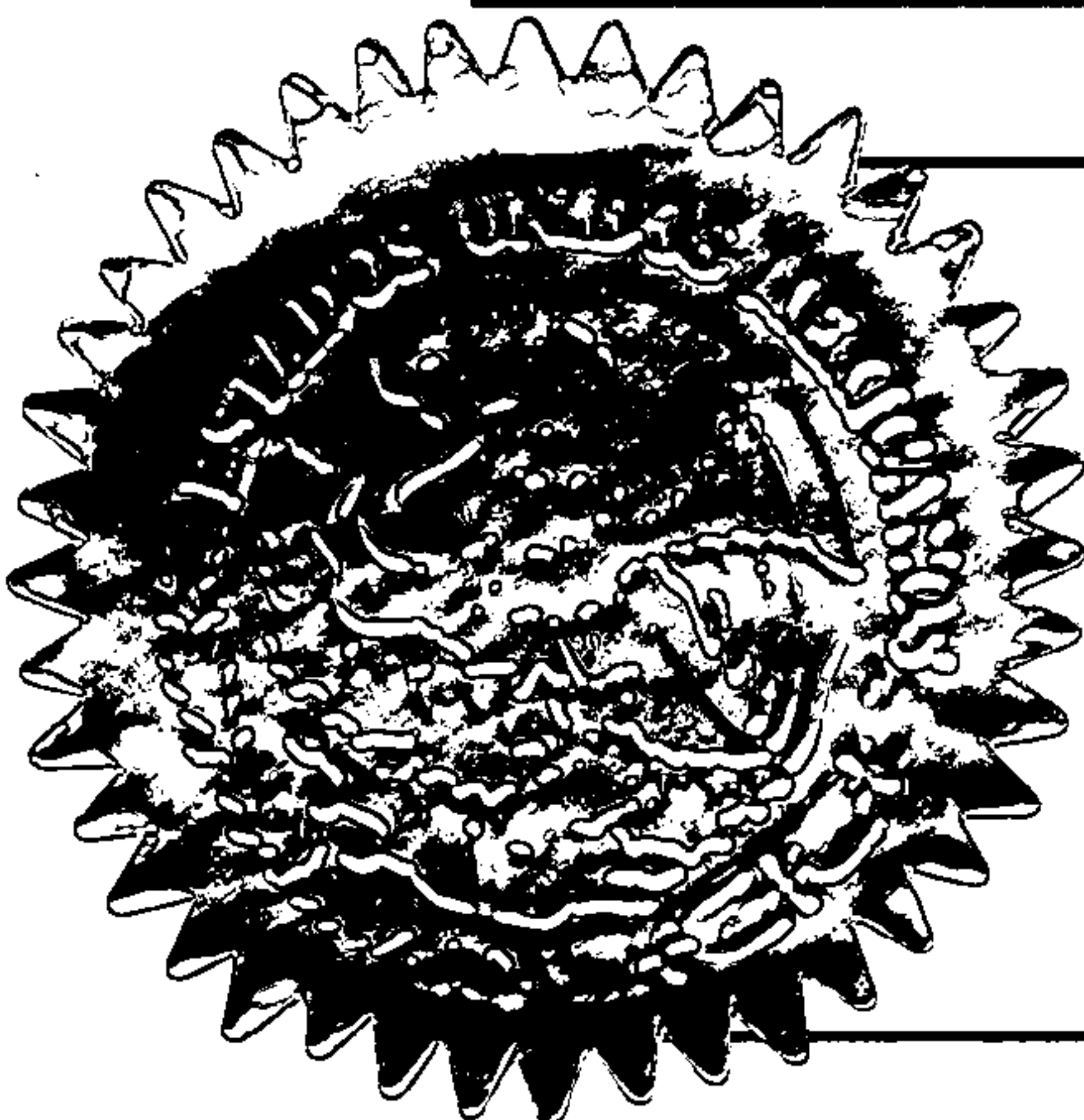
**Fecha de Vencimiento:** 15 de septiembre de 2024

LA VIGENCIA DE ESTA PATENTE ES IMPRRORROGABLE Y ESTÁ SUJETA AL PAGO DE LA TARIFA PARA MANTENER VIGENTES LOS DERECHOS.

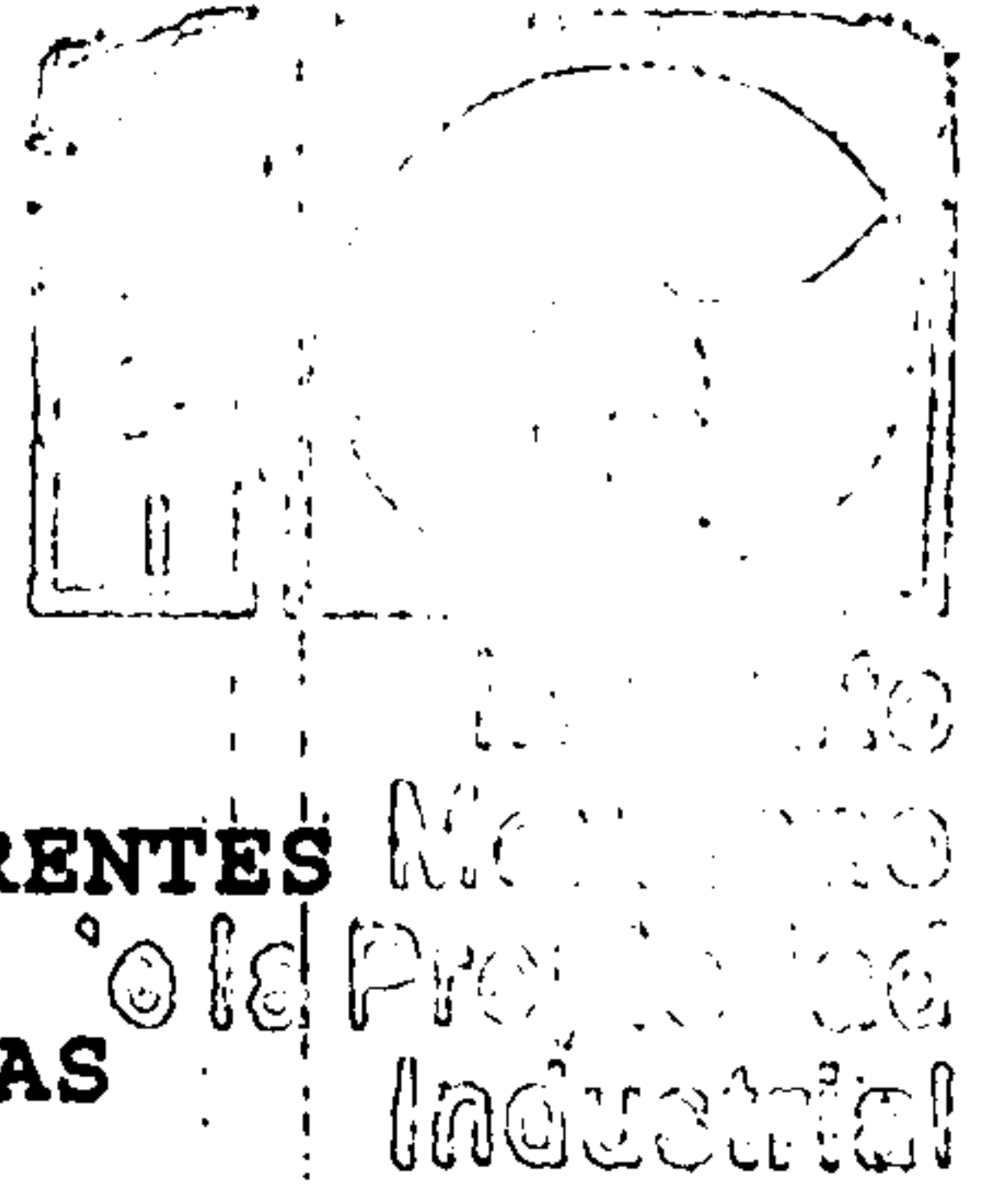
Fecha de expedición: 13 de junio de 2011

EL DIRECTOR DIVISIONAL DE PATENTES

QUÍM. FABIÁN R. SALAZAR GARCÍA



287426  
13-VF2011



COMPOSICIONES QUE CONTIENEN EXTRACTOS DE DIFERENTES  
FUENTES ANIMALES Y MÉTODOS PARA PREPARAR LAS  
COMPOSICIONES

5

RECLAMACIÓN DE PRIORIDAD

Esta solicitud reclama el beneficio de la fecha de presentación de la solicitud de Patente Serie No. 10/663,353, presentada en septiembre de 2003, pendiente.

10

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere, en general, a las composiciones que tienen un factor de transferencia y, más específicamente, las composiciones que tienen factor de transferencia de diferentes tipos de animales fuente. La presente invención también se refiere a los métodos para preparar las composiciones que tienen diferentes tipos de factor de transferencia y a los métodos para producir o intensificar una respuesta inmunitaria mediada por células T por el sistema inmunitario de un individuo.

20

ANTECEDENTE

Muchos de los patógenos mortales pasan a los humanos precedentes del reino animal. Por ejemplo, los monos son la fuente del virus de inmunodeficiencia humana tipo I (VIH-I), que causa el síndrome de inmunodeficiencia

25



adquirida (SIDA) y la viruela de los monos, que es semejante a la viruela; se considera que los mamíferos terrestres son la fuente del virus de Ebola; los murciélagos fruteros y cerdos son el origen del virus de Nipah; el virus de Hendra viene de los caballos; el virus responsable de la "influenza de Hong Kong" originada en pollos; y las aves silvestres, especialmente los patos, son la fuente de muchos de los virus de influenza mortales. Muchas enfermedades también tienen reservorios animales. Por ejemplo, los ratones portan el virus de Hanta, las ratas portan la plaga negra y el venado porta la enfermedad de Lyme.

#### *El sistema inmunitario*

Los sistemas inmunitarios de los vertebrados están equipados para reconocer y defender el cuerpo contra organismos patógenos invasores, como los parásitos, bacterias, hongos y virus. Los sistemas inmunitarios vertebrados por lo regular tienen un componente celular y un componente no celular.

El componente celular de un sistema inmunitario puede ser los denominados "linfocitos", o células sanguíneas blancas, de las cuales existen diversos tipos. Es el componente celular de un sistema inmunitario maduro





el. que normalmente monta una respuesta primaria, específica para invadir a los patógenos, estando también involucrado en una respuesta secundaria, específica hacia los patógenos.

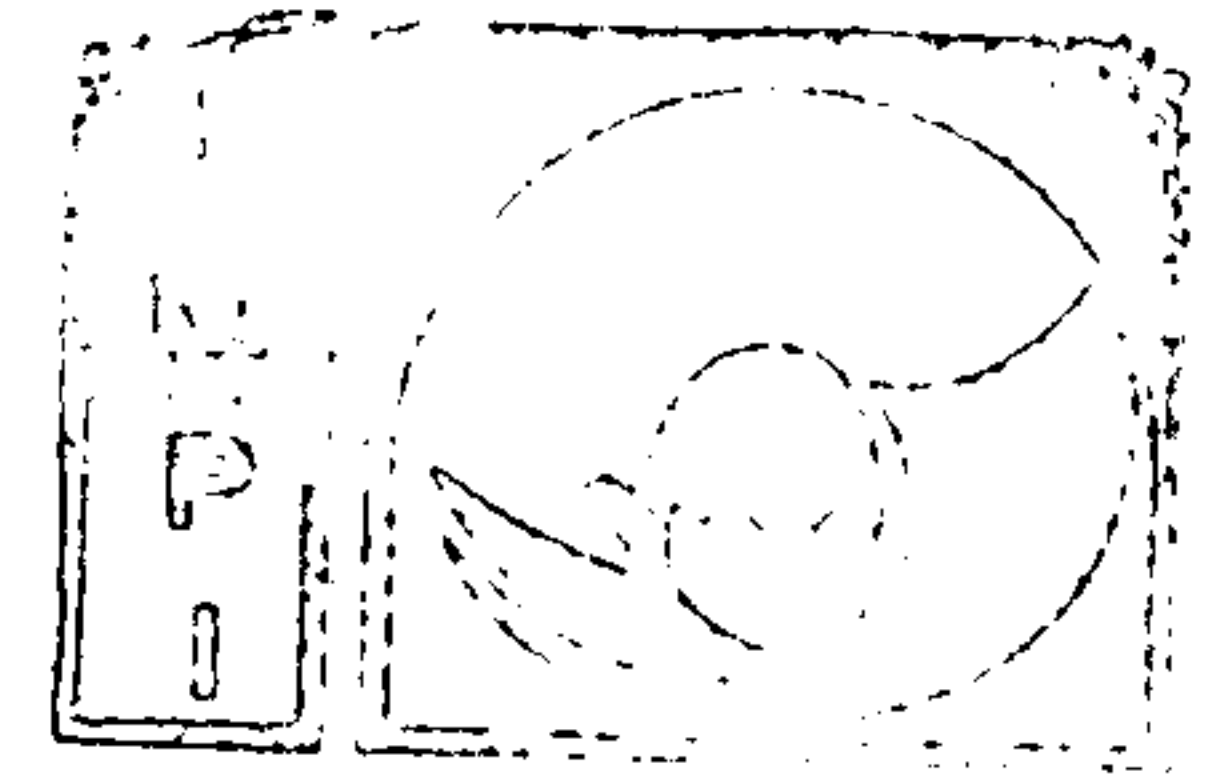
5

En la respuesta primaria, o inicial a una infección por un patógeno, las células sanguíneas blancas que se conocen como fagocitos localizan y atacan los patógenos invasores. Por lo regular, un fagocito internalizará o "comerá" un patógeno, luego digerirá el patógeno. Además, las células sanguíneas blancas producen y excretan sustancias químicas en respuesta a las infecciones patógenas destinadas a atacar los patógenos o ayudar a dirigir el ataque sobre los patógenos.

15

Solo si una infección por patógenos invasores elude la respuesta inmunitaria primaria es necesaria una respuesta inmunitaria secundaria, específica hacia el patógeno. Cuando esta respuesta inmunitaria secundaria normalmente se retarda, también se conoce como "hipersensibilidad de tipo retardado". Un mamífero, por sí mismo, normalmente no producirá una respuesta inmunitaria secundaria hacia un patógeno hasta aproximadamente siete (7) a aproximadamente catorce (14) días después de haber sido infectado con el patógeno. La

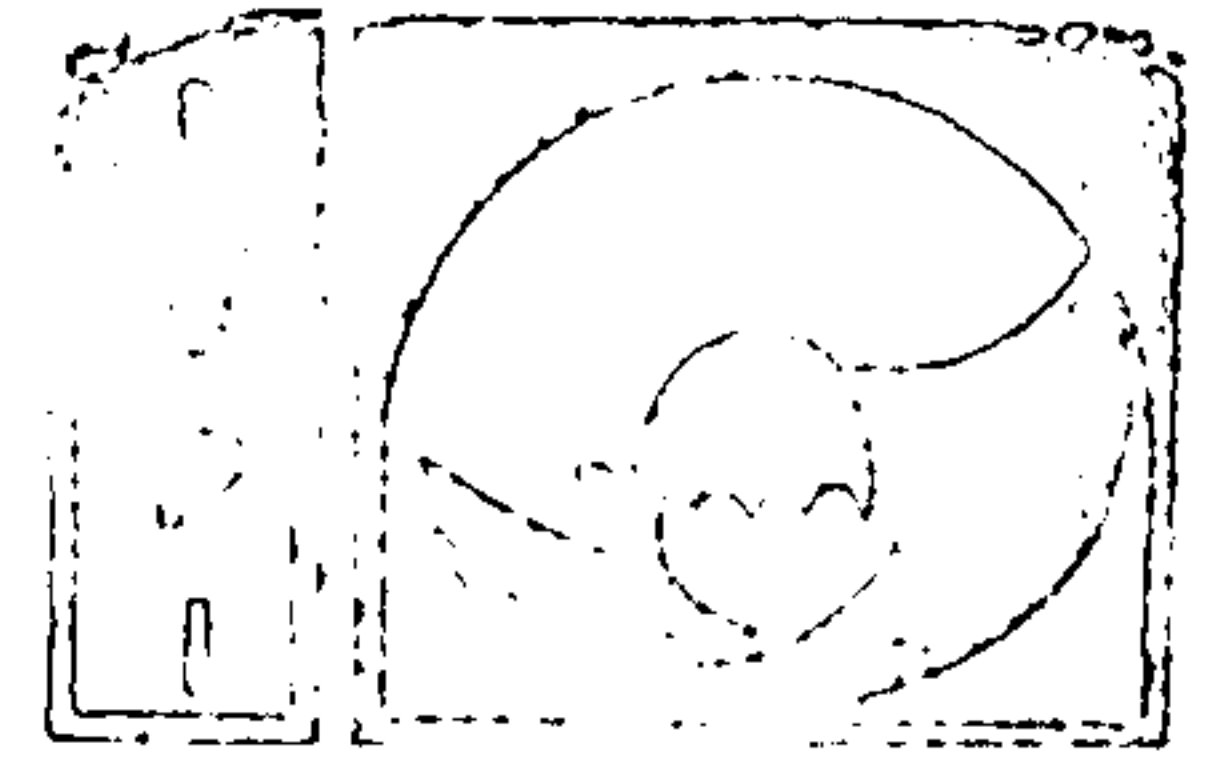
25



respuesta inmunitaria secundaria también se conoce como una inmunidad adquirida hacia los patógenos específicos. Los patógenos tienen una o más proteínas características,

5      las cuales se conoce como "antígenos". En una respuesta inmunitaria secundaria, células sanguíneas blancas conocidas como linfocitos B, o "células B", y los linfocitos T, o "células T", "aprenden" a reconocer uno o más de los antígenos de un patógeno. Las células B y las células T trabajan juntas para generar proteínas denominadas "anticuerpos" que son específicas para (por ejemplo configuradas para unirse o de otro modo "reconocer") uno o más de ciertos antígenos sobre un patógeno.

15      Las células T son responsables principalmente de la hipersensibilidad secundaria o de tipo retardado, la respuesta inmunitaria a un patógeno o agente antigénico. Existen tres tipos de células T: células T cooperadoras, células T supresoras y células T específicas del antígeno, que también se conocen como linfocitos T citotóxicos (lo que significa que "asesinan células") (los CTL) o células T asesinas o células asesinas naturales (NK). Las células T cooperadoras y las T supresoras, aunque no específicas para algunos antígenos, 25 realizan funciones de acondicionamiento (por ejemplo la



inflamación que normalmente acompaña una infección) que ayuda a eliminar a los patógenos o agentes antigénicos de un hospedero infectado.

5 Los anticuerpos, que constituyen solo una parte del componente no celular de un sistema inmunitario, reconocen antígenos específicos y, de este modo, se dice que son "específicos del antígeno". Los anticuerpos generados entonces ayudan básicamente a las células

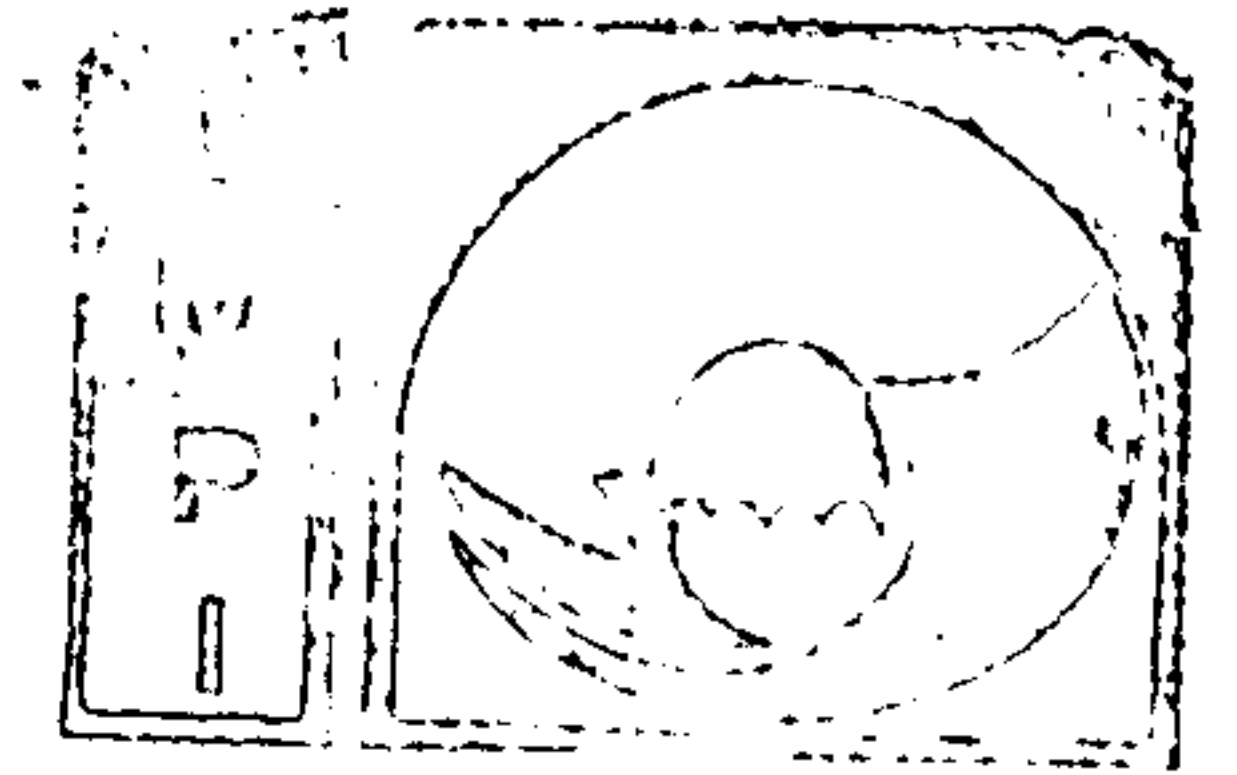
10 sanguíneas blancas a ubicar y eliminar del cuerpo al patógeno. Por lo regular, una vez que una célula sanguínea blanca ha generado un anticuerpo contra un patógeno, las células sanguínea blanca y todas sus progenitoras siguen produciendo el anticuerpo. Después de

15 que se elimina una infección, una pequeña cantidad de células T y B que corresponden a los antígenos reconocidos se mantienen en un estado "latente". Cuando los agentes patogénicos o antigénicos correspondientes de nuevo infectan al hospedero, las células T y células B

20 "latentes" se activan y, en aproximadamente cuarenta y ocho (48) horas, inducen una respuesta inmunitaria rápida. Al responder de este modo, el sistema inmunitario monta una respuesta inmunitaria secundaria hacia un patógeno, se dice que el sistema inmunitario tiene una

25 "memoria" para ese patógeno.





Instituto

Mexicano

de la Propiedad

Industrial

También se sabe que los sistemas inmunitarios de mamífero producen proteínas más pequeñas conocidas como "factores de transferencia", como parte de una respuesta inmunitaria secundaria a los patógenos infecciosos. Los factores de transferencia son otra parte no celular de un sistema inmunitario de mamífero. Se piensa que los factores de transferencia específicos del antígeno son estructuralmente análogos a los anticuerpos, pero a una escala molecular mucho más pequeña. Los factores de transferencia y anticuerpos específicos del antígeno tienen lugares específicos del antígeno. Además, los factores de transferencia y los anticuerpos tienen regiones altamente conservadas que interactúan con sitios receptores en sus células efectoras respectivas. En las moléculas del factor de transferencia y anticuerpo una tercera región, "ligador", conecta los sitios específicos del antígeno y las regiones altamente conservadas.

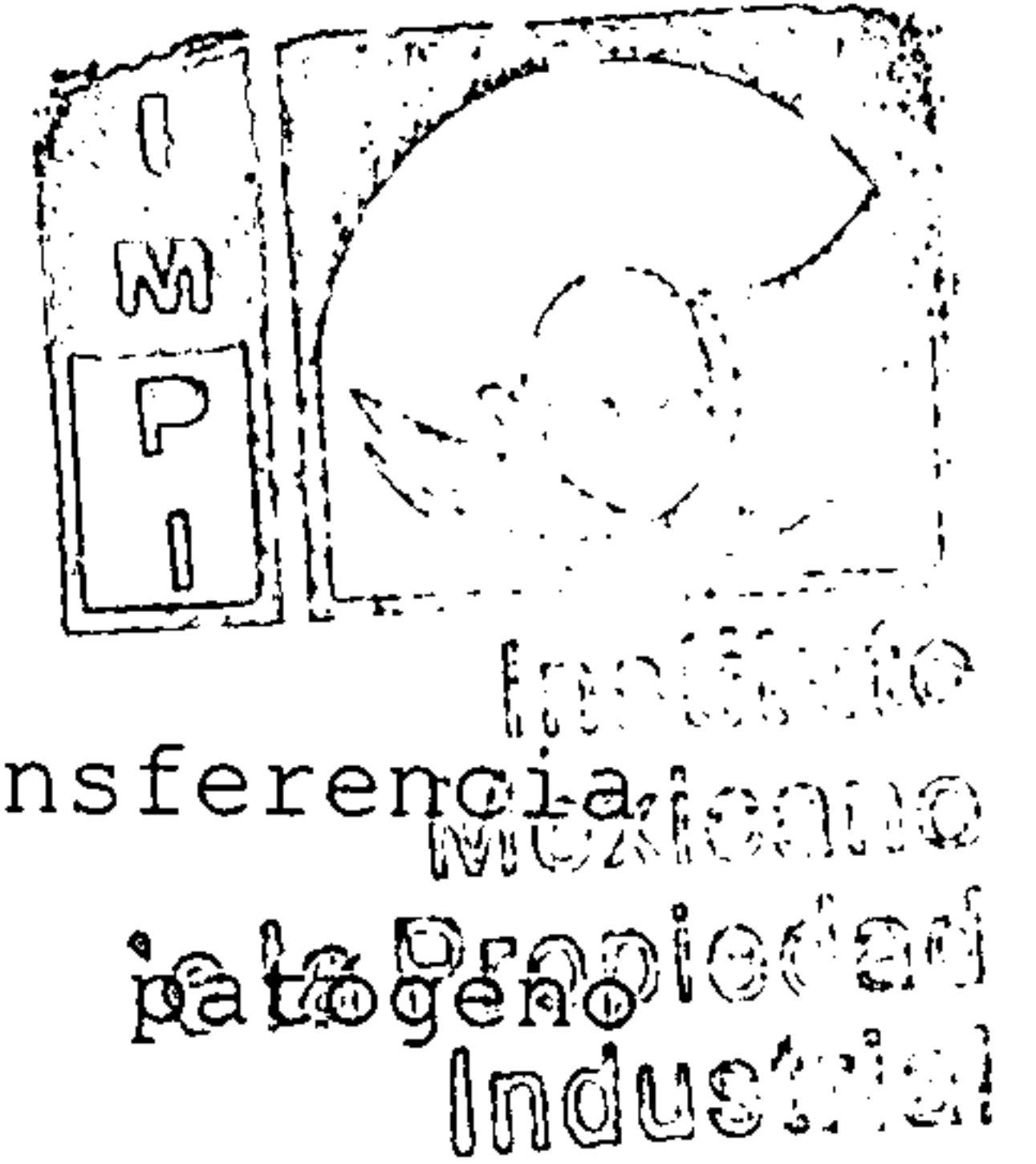
*La función del factor de transferencia en el sistema  
inmunitario*

El factor de transferencia es un aislado de linfocitos de peso molecular bajo. En pocas palabras, los factores de transferencia pueden tener especificidad para antígenos individuales. Las Patentes de Estados Unidos 5,840,700 y 5,470,835, ambas publicadas para



Kirkpatrick y col., (en adelante mencionadas en forma colectiva como "las Patentes de Kirkpatrick"), describen el aislamiento de los factores de transferencia específicos para ciertos antígenos. En un sentido amplio los factores de transferencia "específicos" han sido generados de cultivos celulares de linfocitos monoclonales. Aún si estos factores de transferencia se generan contra un patógeno individual, estos tienen especificidad para una variedad de lugares antigénicos de ese patógeno. Así pues, se dice que estos factores de transferencia son "específicos del patógeno" en lugar de específicos del antígeno. Del mismo modo, los factores de transferencia que se obtienen de un hospedero que ha sido infectado con un cierto patógeno son específicos del patógeno. Aunque tales preparados muchas veces se conocen en la técnica como "específicos del antígeno" por su habilidad para producir una respuesta inmunitaria secundaria cuando esta presente un antígeno particular, en estos preparados también pueden estar presentes factores de transferencia con diferentes especificidades así pues, incluso los denominados preparados de factores de transferencia específicos del patógeno, "específicos del antígeno" pueden ser específicos para una variedad de antígenos.

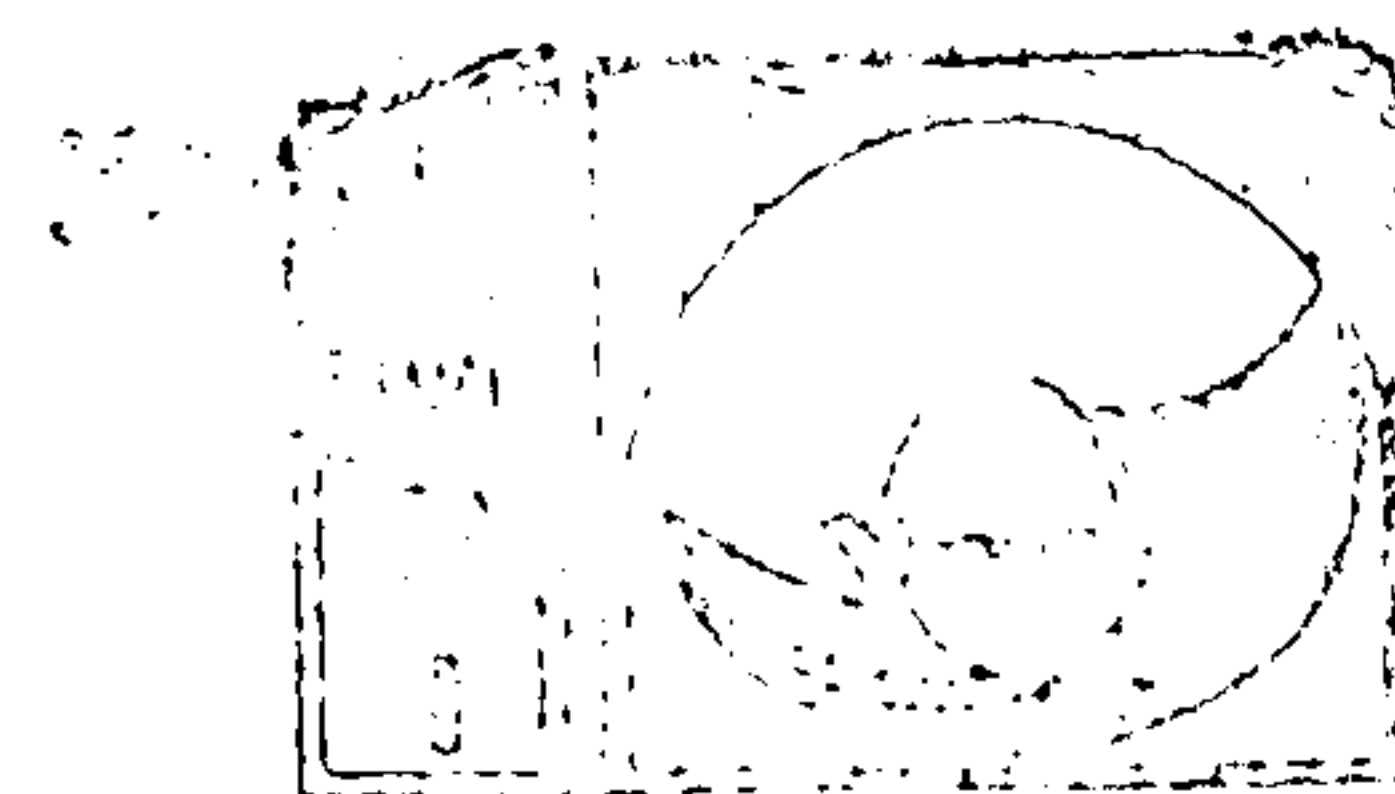




Además, se cree que los factores de transferencia  
específicos del antígeno y específicos del patógeno  
pueden hacer que un hospedero desencadene una respuesta  
inmunitaria de hipersensibilidad de tipo retardado hacia  
5 los patógenos o antígenos para los cuales tales moléculas  
factores de transferencia no son específicas. El factor  
de transferencia "hace salir" por lo menos las células T  
no específicas, las células T inductoras y las T  
supresoras, para un patógeno infeccioso o agente  
10 antigénico para facilitar una respuesta inmunitaria  
secundaria, o de hipersensibilidad de tipo retardado  
hacia el patógeno infeccioso o agente antigénico.

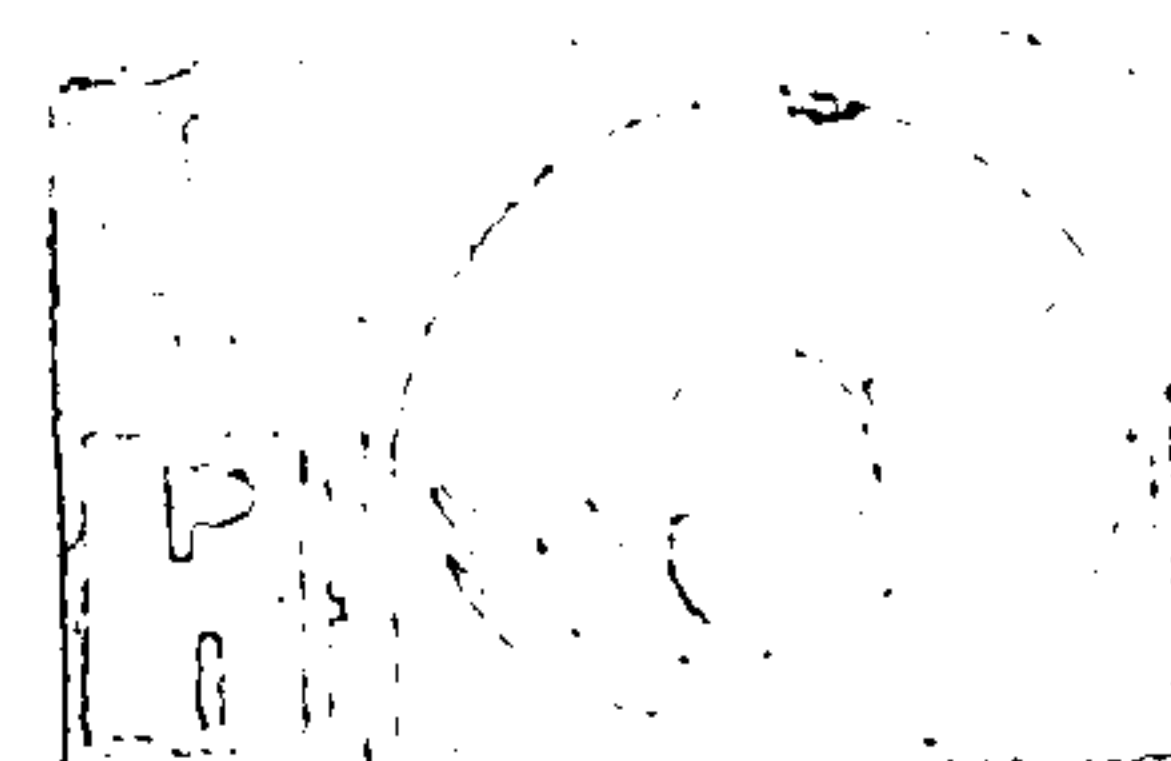
Normalmente, el factor de transferencia incluye un  
15 aislado de proteínas de peso moleculares menores de  
aproximadamente 10,000 daltons (D) que sean han obtenido  
de mamíferos inmunológicamente activos. Es sabido que el  
factor de transferencia, si se adiciona in vitro o in  
vivo a los sistemas celulares inmunitarios de mamífero,  
20 mejora o normaliza la respuesta del sistema inmunitario  
del mamífero receptor.

Los sistemas inmunitarios de recién nacidos  
normalmente no han desarrollado, o "madurado", suficiente  
25 para defender efectivamente al recién nacido contra



Instituto  
Mexicano  
de Propiedad  
Industrial

patógenos invasores. Además, antes del nacimiento, muchos mamíferos son protegidos de una amplia variedad de patógenos por sus madres. Así pues, muchos mamíferos recién nacidos no pueden desencadenar inmediatamente una respuesta secundaria a una variedad de patógenos. En cambio, los mamíferos recién nacidos normalmente reciben inmunidad secundaria a los patógenos a través de sus madres. Una forma bien conocida en la que las madres refuerzan los sistemas inmunitarios de los recién nacidos es proporcionando al recién nacido una serie de factores de transferencia. En los mamíferos, el factor de transferencia lo proporciona la madre a un recién nacido en el calostro, que normalmente es sustituido por la leche materna después de un día o dos. El factor de transferencia básicamente transfiere al recién nacido la inmunidad adquirida, específica de la madre (es decir, la hipersensibilidad de tipo retardado). Esta inmunidad transferencia normalmente acondiciona las células del sistema inmunitario del recién nacido para reaccionar contra los patógenos en una forma específica del antígeno, también en un modo no específico del antígeno o el patógeno, hasta que el sistema inmunitario del recién nacido puede por sí mismo defenderse de los patógenos. Así pues, cuando está presente el factor de transferencia, el sistema inmunitario del recién nacido



esta acondicionado para reaccionar a los patógenos con una respuesta de hipersensibilidad, como la que sucede con una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado, común. Por consiguiente, se dice que el factor de transferencia "arranca" la respuesta de los sistemas inmunitarios a los patógenos.

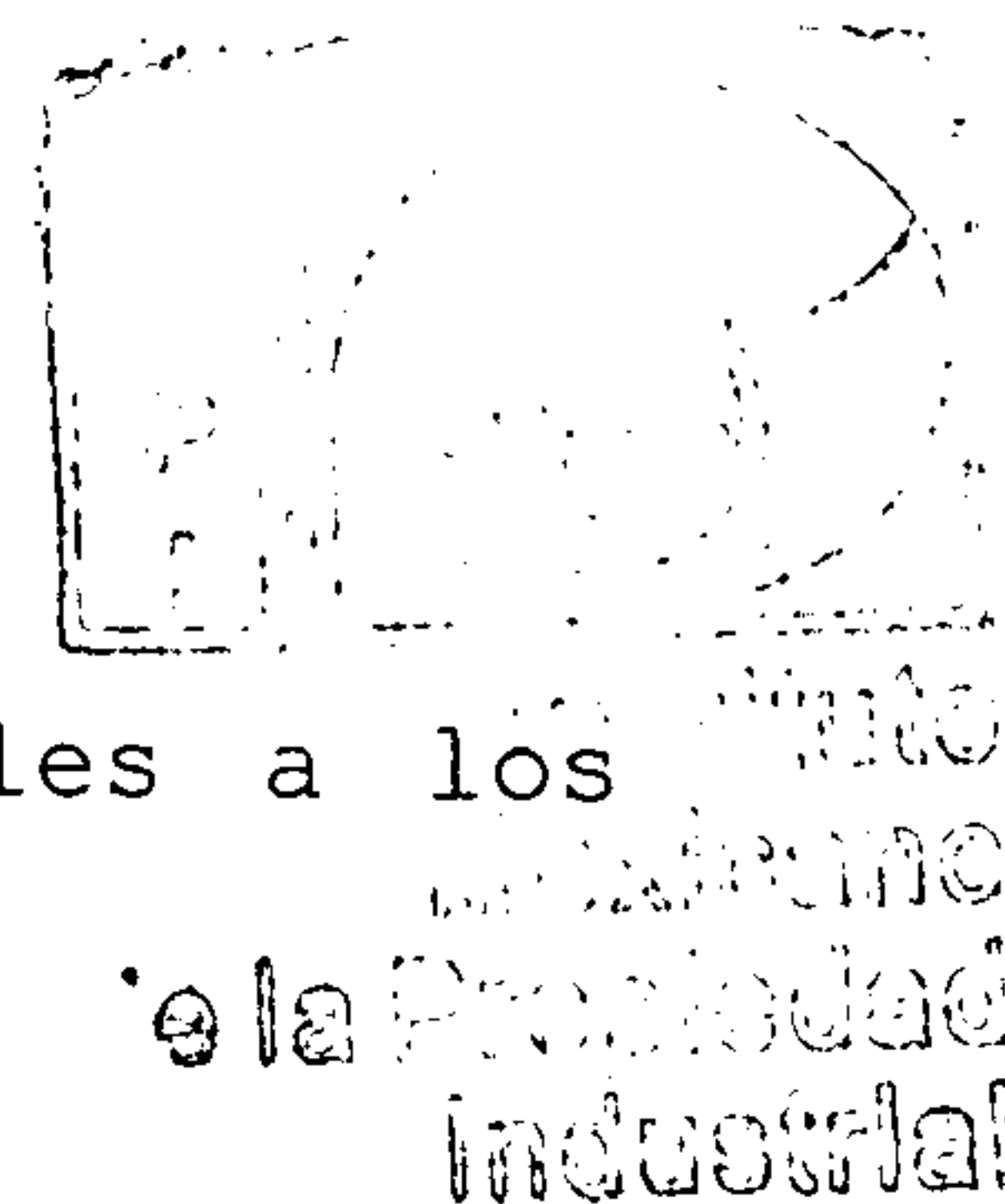
Una buena parte de la investigación que involucra el factor de transferencia se ha realizado en años recientes. En la actualidad, se considera que el factor de transferencia es una proteína con una longitud de aproximadamente cuarenta y cuatro (44) aminoácidos. El factor de transferencia normalmente tiene un peso molecular en el intervalo de aproximadamente 3000 a aproximadamente 5000 daltons (Da), o aproximadamente 3 kDa a aproximadamente 5 kDa, pero puede ser posible que las moléculas del factor de transferencia tengan pesos moleculares fuera de este intervalo. También se piensa que el factor de transferencia tiene tres fracciones funcionales, cada una de las cuales puede incluir diferentes tipos de moléculas del factor de transferencia: una fracción inductora; una fracción supresora inmunitaria y una fracción específica del antígeno. También se cree que el factor de transferencia tiene una porción nucleósido que podría estar conectada a





la molécula proteína o separada de esta, que puede intensificar la habilidad del factor de transferencia para hacer que un sistema inmunitario de mamífero desencadene una respuesta inmunitaria secundaria. La porción nucleósido puede ser parte de las fracciones inductora o supresora del factor de transferencia.

La región específica del antígeno de los factores de transferencia específicos del antígeno, según se piensa, comprenden aproximadamente ocho (8) a aproximadamente doce (12) aminoácidos. Una segunda región altamente conservada de aproximadamente diez (10) aminoácidos es considerada una región de unión al receptor de células T de afinidad muy alta. Los aminoácidos restantes pueden contribuir a ligar las dos regiones activas o pueden tener otras propiedades todavía no descubiertas. La región específica del antígeno de una molécula factor de transferencia, que es análoga a la estructura específica del antígeno conocida de un anticuerpo, pero a una escala de peso molecular mucho más pequeña, parece ser hipervariable y esta adaptada para reconocer una proteína característica en uno o más patógenos. Se piensa que las fracciones inductora y supresora inmunitarias imparten al factor de transferencia su habilidad para acondicionar las diferentes células del sistema inmunitario de modo

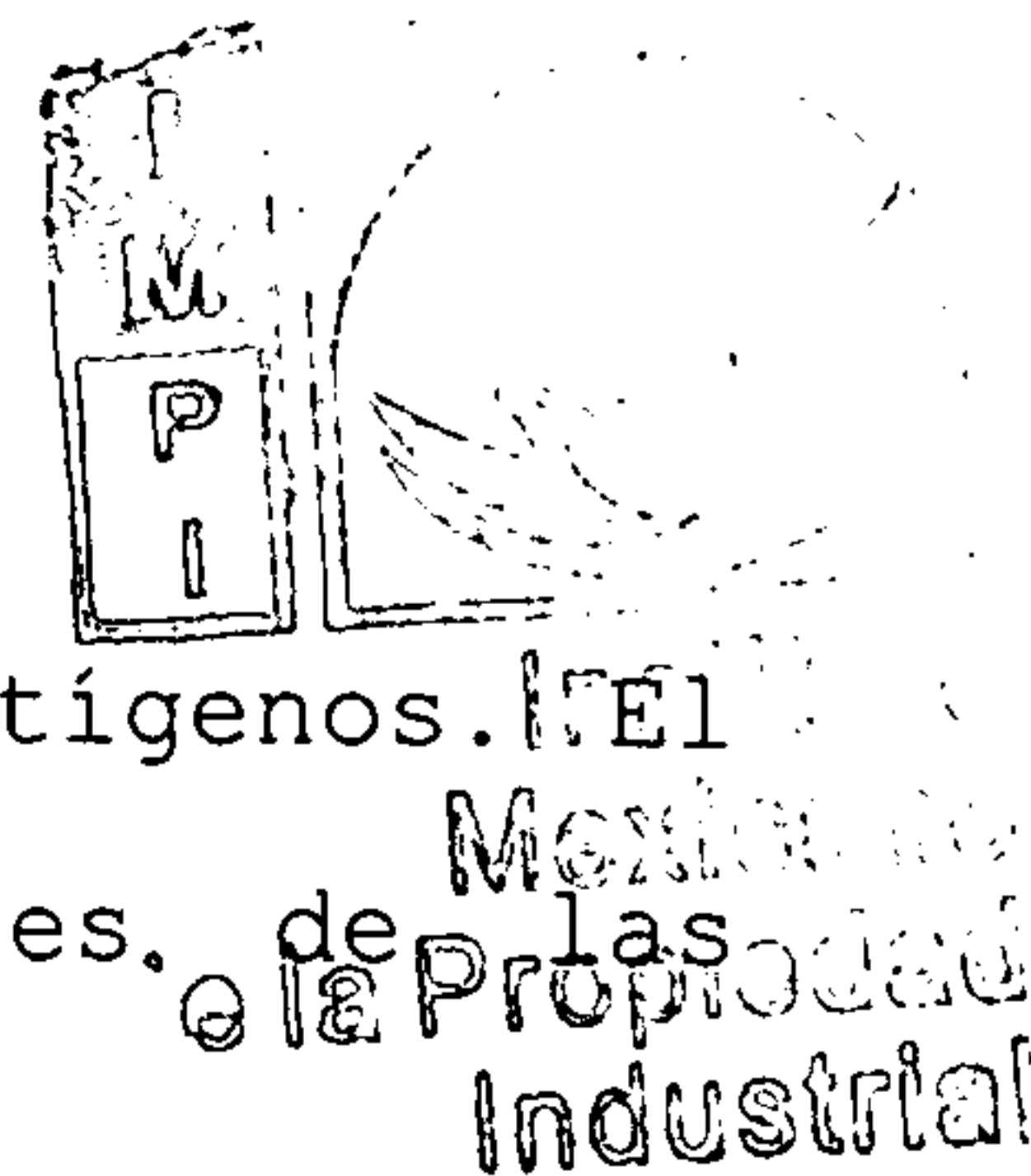


que las células sean más completamente sensibles a los estímulos patogénicos en su entorno.

*Procedencia de los componentes no celulares del sistema  
inmunitario*

5 Como es tradicional, el factor de transferencia ha sido obtenido del calostro de las vacas lecheras, por el método descrito en US 4,816,563 para Wilson y col., (en adelante "Wilson"). Si bien las vacas lecheras  
10 normalmente producen grandes cantidades de calostro y, de este modo, grandes cantidades del factor de transferencia durante un periodo relativamente corto, las vacas lecheras solo producen calostro durante aproximadamente un día o un día y medio por año. Así pues, las vacas  
15 lecheras no son una fuente constante del factor de transferencia ni una fuente eficiente del factor de transferencia.

El factor de transferencia también ha sido obtenido  
20 de una amplia variedad de otras fuentes de mamífero. Por ejemplo, durante la investigación del factor de transferencia se han utilizado ratones como fuente de factor de transferencia. Normalmente se introducen antígenos por vía subcutánea en ratones, los cuales luego  
25 se sacrifican después de una reacción de

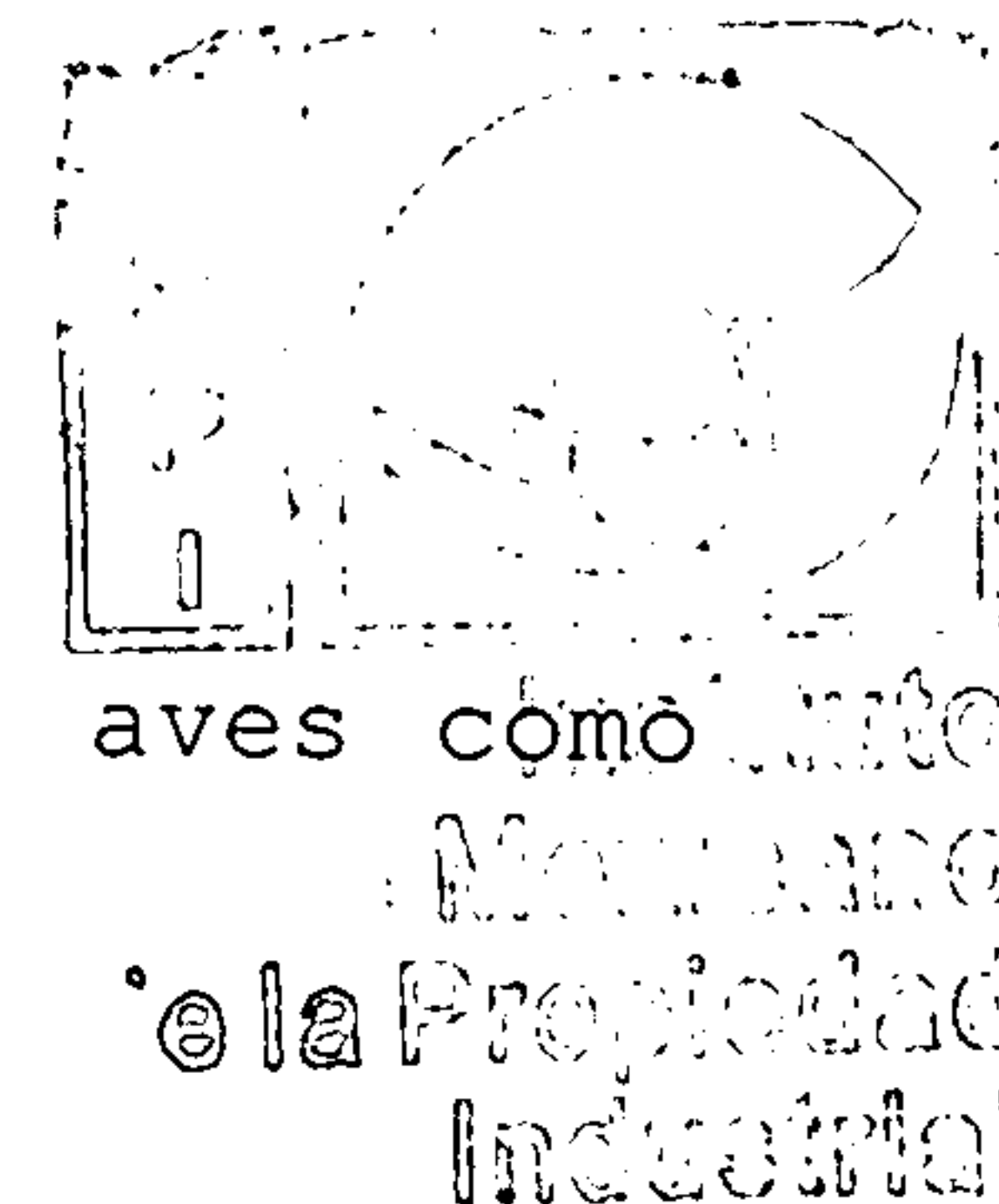


hipersensibilidad de tipo retardado a los antígenos. El factor de transferencia se obtiene entonces, de las células esplénicas de los ratones.

5 Sin bien normalmente se utilizan diferentes mecanismos para generar la producción de anticuerpos, la fuente original de anticuerpos también puede ser de mamífero. Por ejemplo, es posible obtener anticuerpos monoclonales inyectando a un ratón, conejo u otro  
10 mamífero con un antígeno, obteniendo las células productoras de anticuerpos del mamífero, luego fusionando las células productoras de anticuerpos con las células inmortalizadas para producir una líneas de células de hibridoma, la cual continuará produciendo los anticuerpos  
15 monoclonales a lo largo de varias generaciones de células y, de este modo, durante un tiempo prolongado.

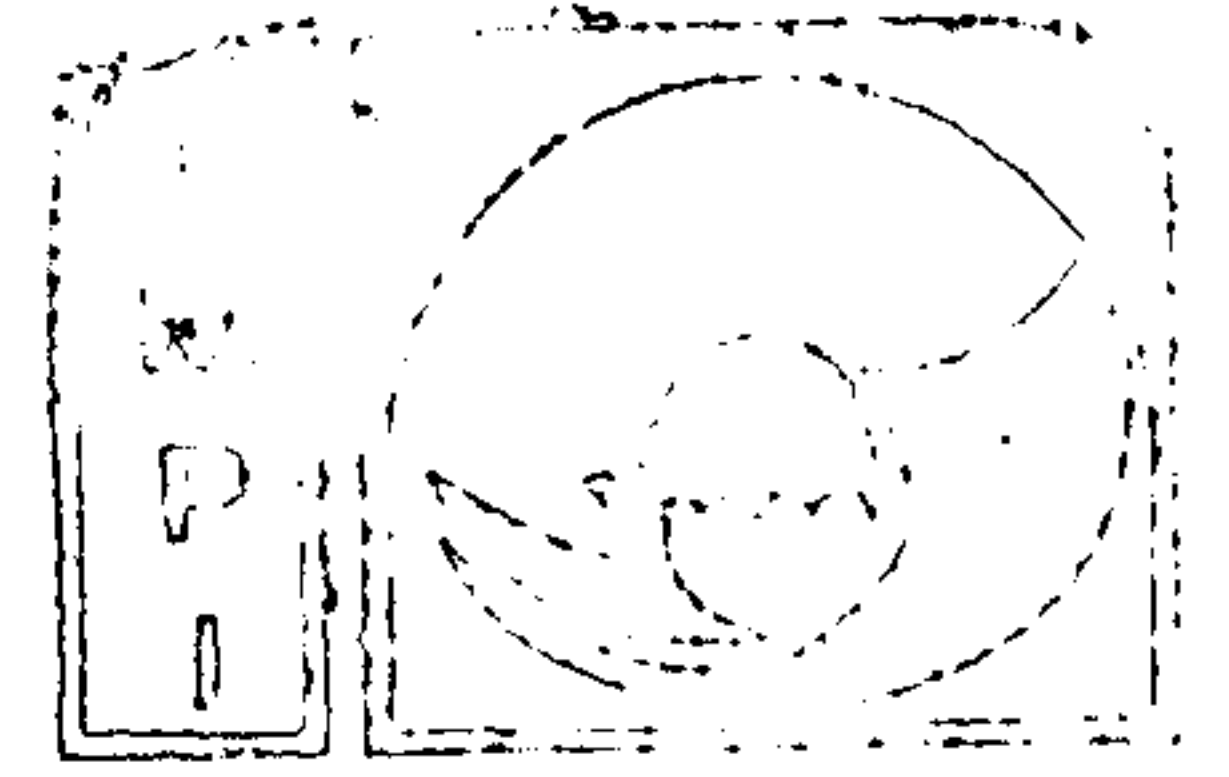
Se han obtenido anticuerpos contra patógenos de mamífero de una amplia variedad de orígenes, incluidos  
20 los ratones, conejos, cerdos, vacas y otros mamíferos. Además, los patógenos que causan algunas enfermedades humanas, como el resfriado común, según se sabe, tienen origen en las aves. A medida que se ha reconocido que los sistemas inmunitarios aviarios (es decir, de las aves) y  
25 los sistemas inmunitarios de mamífero son muy semejantes,





algunos investigadores se han vuelto hacia las aves como fuente para obtener anticuerpos.

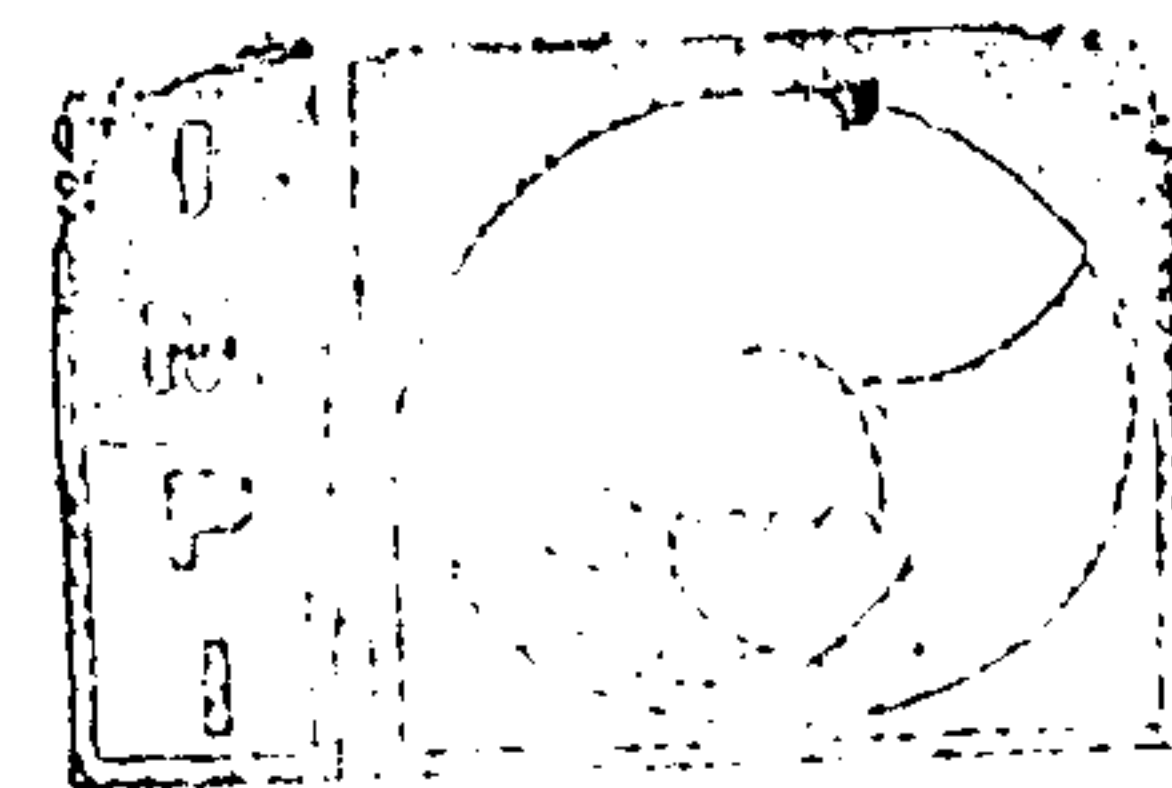
Los anticuerpos aviarios que son específicos para los patógenos que infectan a los mamíferos, o "patógenos de mamífero" han sido obtenidos introduciendo antígenos en huevos. De otro modo, los anticuerpos pueden estar presentes en los huevos luego de exponer al antígeno a los animales origen, incluidos los antígenos de los patógenos mamíferos. La Patente de Estados Unidos 5,080,895, publicada para Tokoro el 14 de enero de 1992 (en adelante "la Patente '895"), describe un método que consiste en inyectar a las gallinas patógenos que provocan enfermedades infecciosas intestinales en mamíferos neonatos. Luego las gallinas producen anticuerpos específicos para esos patógenos, los cuales estarán presentes en los huevos que estas ponen. La patente '895 describe composiciones que contienen estos anticuerpos específicos del patógeno y los utilizan para tratar y prevenir enfermedades intestinales en lechos neonatos y bovinos. El tratamiento de infecciones patogénicas en mamíferos con anticuerpos aviarios puede tener resultados no deseados. No obstante, puesto que los sistemas inmunitarios de mamíferos pueden responder negativamente a las grandes moléculas de anticuerpo



aviario desencadenando una respuesta inmunitaria a los propios anticuerpos. Más aún, a medida que los sistemas inmunitarios de mamífero no reconocen a los anticuerpos aviarios como útiles por sus habilidades para reconocer ciertos patógenos, o las especificidades de los anticuerpos aviarios para los antígenos de estos patógenos, los anticuerpos aviarios muchas veces no desencadenan las respuestas inmunitarias deseadas en mamíferos.

10

También se sabe que el factor de transferencia puede obtenerse de los huevos. La Patente US 6,468,534 para Hennen y col., (en adelante "Hennen") describe un proceso mediante el cual se expone a las pollas (es decir, las gallinas) a uno o más antígenos, que da como resultado el desencadenamiento de una respuesta inmunitaria, incluida una respuesta inmunitaria secundaria, a través de los pollos. Como resultado de la respuesta inmunitaria secundaria, las moléculas de los factores de transferencia están presentes en los huevos de los pollos. Entonces los huevos se pueden procesar para obtener un producto en el que este presente el factor de transferencia. Un producto como este puede tomar la forma de un polvo de huevo secado por aspersion o secado por congelación, o liofilizado, y puede estar constituido de



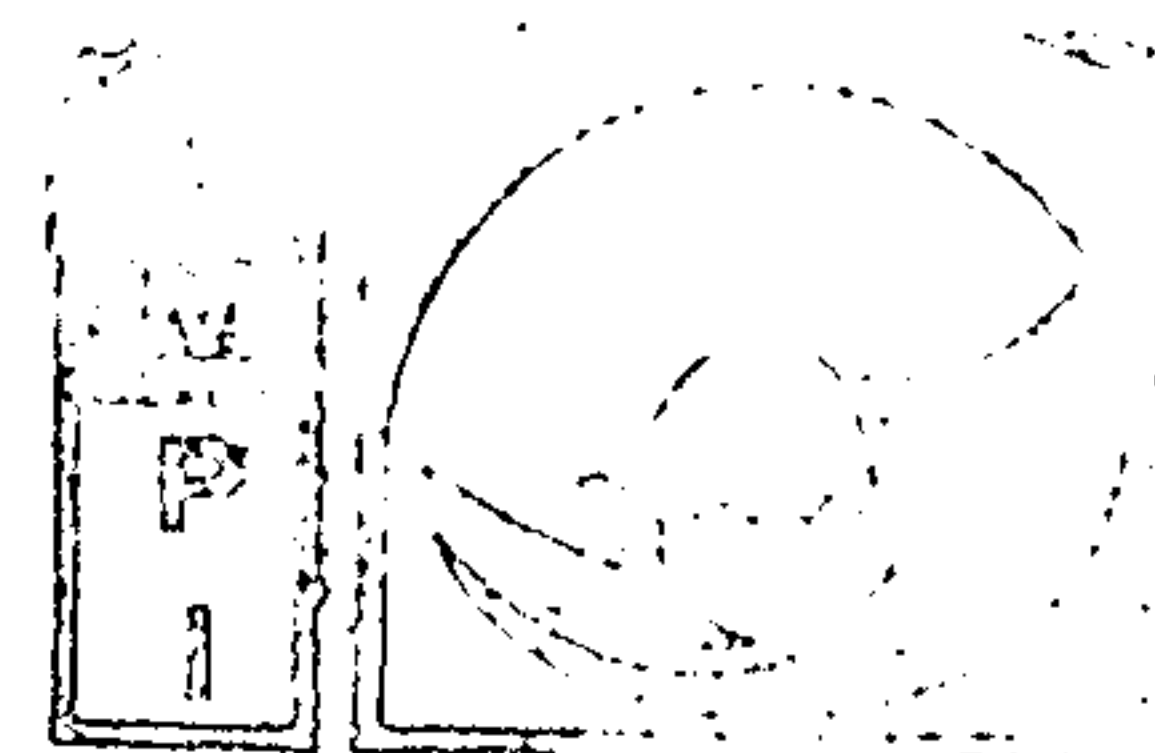
todo o parte del huevo. El polvo de huevo entonces se puede incorporar directamente en cápsulas de gelatina mezclarse con otras sustancias para luego ser introducido en las cápsulas de gelatina.

5

La Figura 2 representa en forma de esquema el equipo para encapsulación de un tipo que se utiliza actualmente para encapsular el factor de transferencia aviario obtenido de huevo en forma de un polvo de huevo. El equipo de encapsulación 20 consiste en una tolva alimentadora de la composición 24, una estación de alimentación 28 y un transportador de tornillo 26 en comunicación entre cada tolva alimentadora de la composición 24 y la estación de alimentación 28. El tornillo alimentador 26 transporta el polvo de huevo completo desde la tolva alimentadora de la composición 24 a la estación alimentadora 28.

Cuando funciona el tornillo alimentador 26, éste se calienta a una temperatura que supera el punto de fusión relativamente bajo del colesterol, de la yema de huevo, en el polvo de huevo. El colesterol calentado es pegajoso, recubriendo el tornillo alimentador 26, el conducto que se comunica con éste y la estación de alimentación 28, disminuyendo con ello la eficiencia con

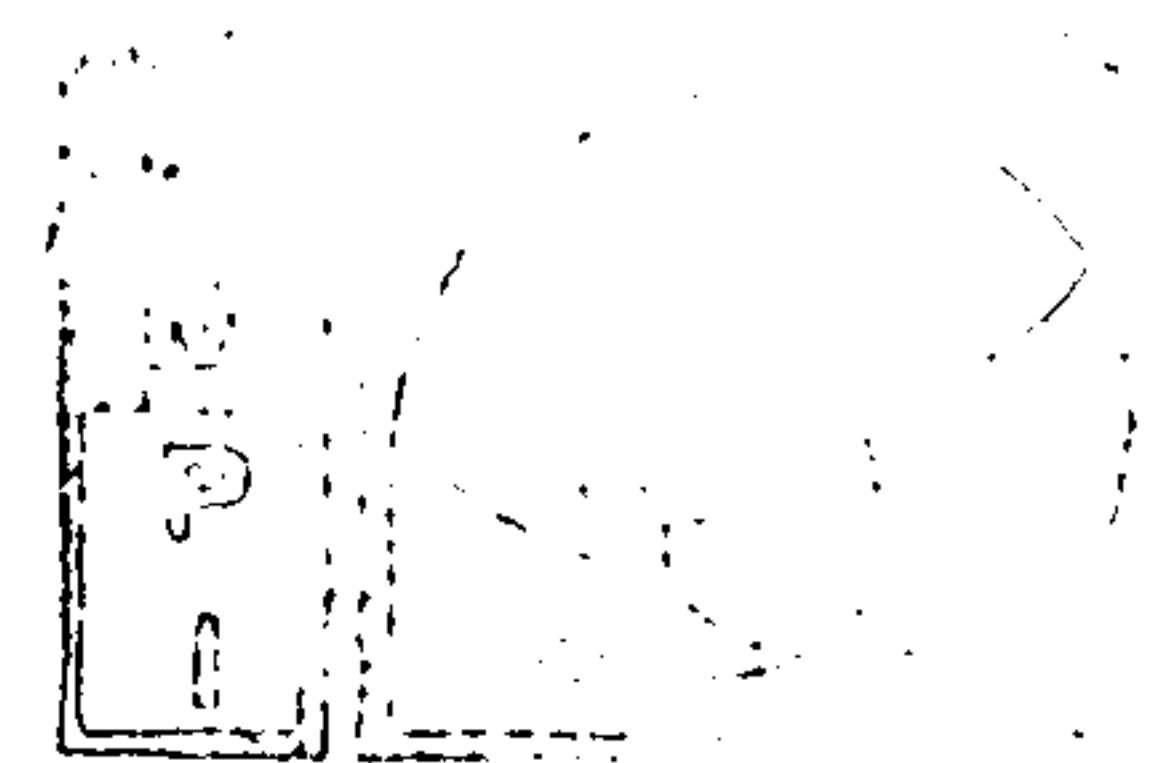




la que funciona el equipo de encapsulación 20. Como consecuencia, el equipo de encapsulación debe desensamblado y limpiado periódicamente, lo cual requiere de una cantidad considerable de tiempo (por ejemplo hasta 5 aproximadamente 8 horas), dando como resultado una disminución significativa de la productividad del equipo de encapsulación 20 y, de este modo, la cantidad de cápsulas que se pueden llenar con éste. Así pues, el procedimiento del polvo de huevo completo para obtener un 10 producto que contenga el factor de transferencia es alto inconveniente.

Además, las composiciones que se derivan de productos (como huevos o calostro) procedentes de un solo 15 origen animal normalmente solo tienen moléculas factor de transferencia que tienen la especificidad a los antígenos a los que ha sido expuesto el animal origen. La consecuencia de tal exposición limitada puede ser que también sea limitada la eficacia de las composiciones que 20 contienen el factor de transferencia para la prevención o tratamiento de algunos tipos de infecciones o estados.

Por consiguiente, sería conveniente una composición útil para hacer que un sistema inmunitario de un 25 individuo tratado desencadena una respuesta inmune a una

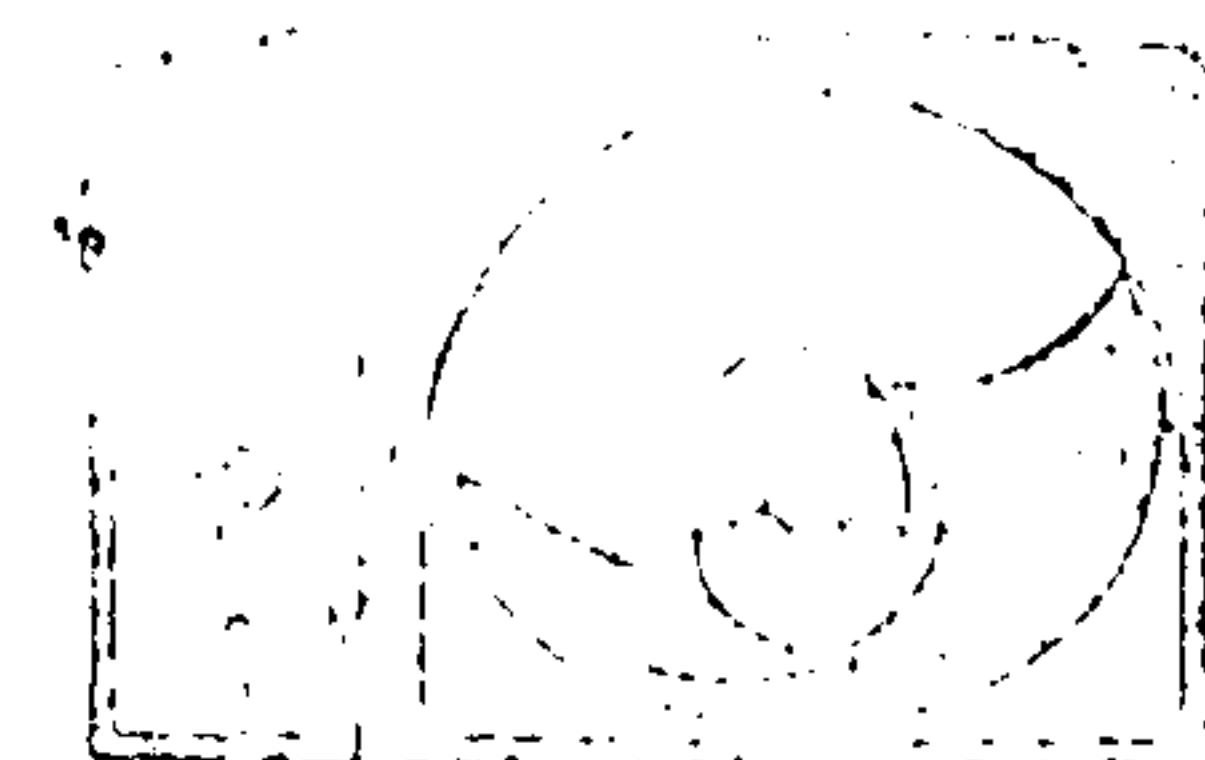


variedad muy amplia de patógenos, así como un método para mejorar la eficacia y productividad con la que opere el equipo para encapsulación y otro equipo formador de la composición.

5

#### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

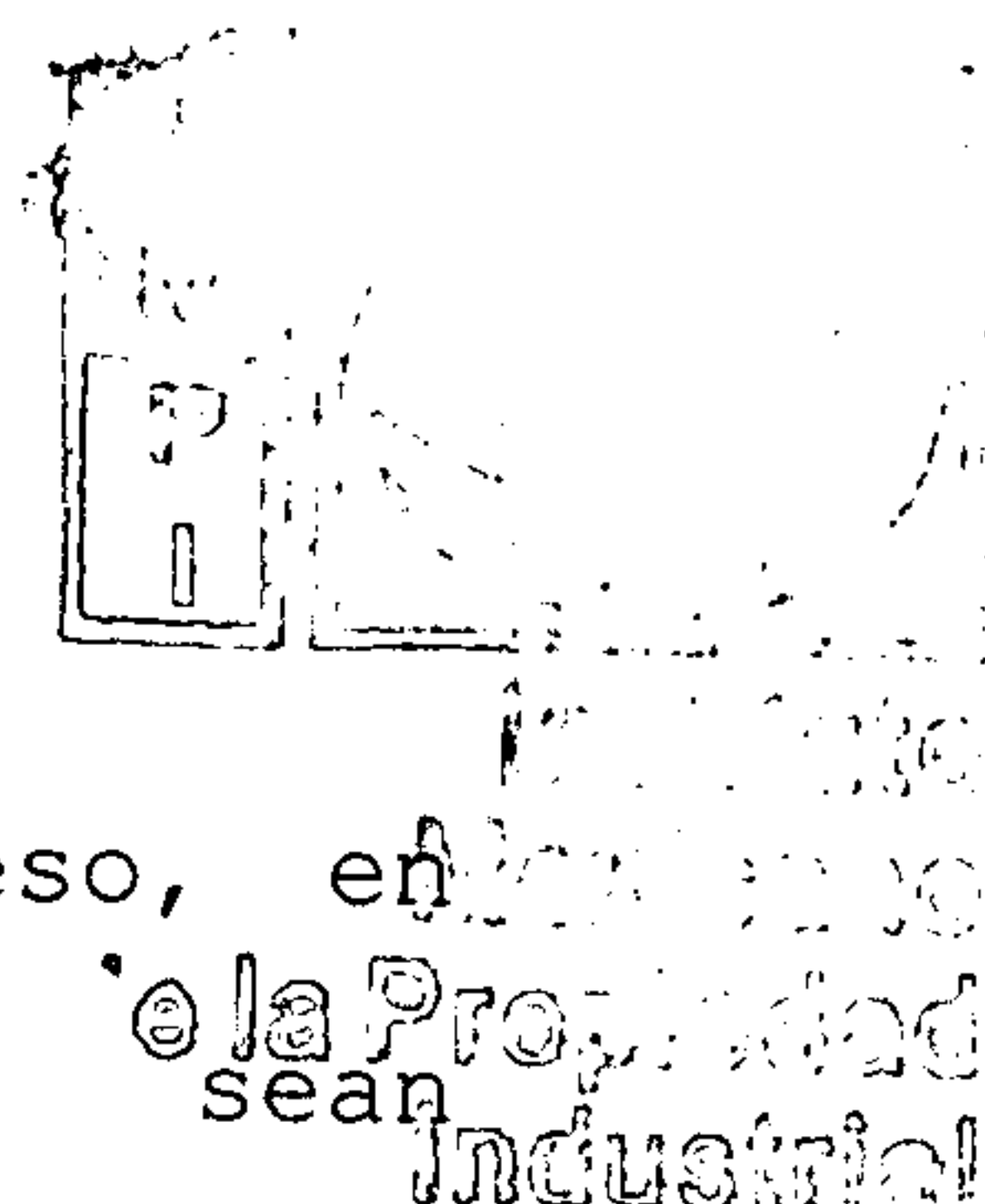
La presente invención incluye una composición para desencadenar una respuesta inmunitaria mediada por células T de un individuo. La composición incluye el factor de transferencia procedente de por lo menos dos tipos diferentes de animales fuente. El término "tipo", cuando se utiliza en la presente con respecto a los animales fuente, describe los animales fuente de los cuales puede obtenerse el factor de transferencia y se refiere a los animales fuente de diferentes clases (por ejemplo mamíferos, aves, reptiles, anfibios, insectos, etc.). El término "tipo" cuando se utiliza en la presente, también se refiere a los animales fuente de diferentes subclases, ordenes, (por ejemplo artiodáctilos, primates, carnívoros, etc.), familias (bovina, homínidos, felinos, etc.), subfamilias, géneros (por ejemplo ganado, humanos, gatos domésticos, etc.). E incluso especies y subespecies. El uso del término del término "tipo" en la presente con respecto al factor de transferencia determina el tipo de animal fuente del cual se obtuvo el factor de transferencia.



Una modalidad ejemplar de la composición contiene el factor de transferencia de animales fuente mamíferos y no mamíferos, cuyos tipos de factor de transferencia también se conocen en la presente como "factor de transferencia de mamífero" y "factor de transferencia no mamífero", respectivamente. Como ejemplo no limitante, el factor de transferencia mamífero puede estar incluido en la composición como calostro o una fracción o extracto de este, los cuales en forma colectiva se conocen en la presente como "productos obtenidos de calostro" o de otro modo, como se sabe en la técnica (por ejemplo como un extracto leucocito (células sanguíneas blancas), como un extracto esplénico ("del bazo", etc.). También como un ejemplo, el factor de transferencia no mamífero de la composición ejemplar puede obtenerse de un huevo o una fracción o extracto de éste, los cuales también se mencionan en la presente como "productos derivados de huevo". Se ha descubierto que cuando tipos diferentes de factores de transferencia se combinan y administran a un animal tratado (por ejemplo un mamífero), sucede alguna sinergia.

Cuando una composición de la presente invención contiene un producto derivado de calostro y un producto derivado de huevo, ambos productos pueden estar incluidos





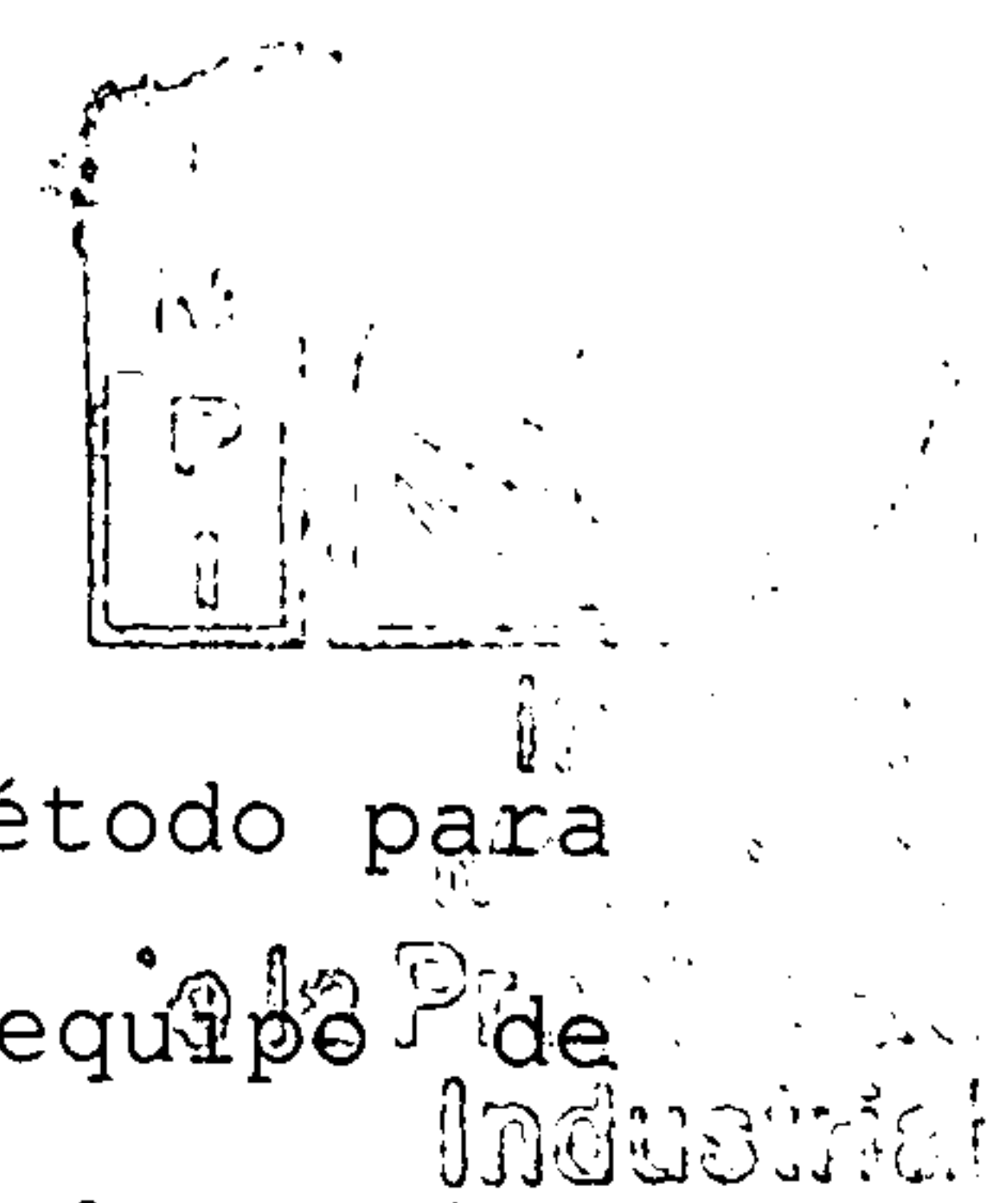
en la mezcla en cantidades (por ejemplo en peso, en volumen, etc., de la mezcla total) que sean aproximadamente iguales, o más de uno de los dos productos, el producto derivado de calostro o el producto derivado de huevo. Los resultados experimentales muestran que el factor de transferencia de los animales fuente que tienen jóvenes altamente dependientes, como la vaca, induce una respuesta inmunitaria secundaria relativamente rápida, con una anergia (es decir, una ausencia de sensibilidad mediante las células sanguíneas blancas a las moléculas factores de transferencia) en una forma relativamente rápida. El factor de transferencia de los animales origen que tienen jóvenes independientes, como los pollos y otras aves "gallináceas" no inducen tan rápido una respuesta inmunitaria secundaria, y no proporcionan una respuesta inmunitaria secundaria más sostenida. Por consiguiente, las concentraciones relativas del producto de transferencia derivado de calostro y el producto derivado de huevo pueden ser diseñadas para generar una respuesta inmunitaria secundaria que suceda o se sostenga durante un tiempo específico.

Otros ingredientes también pueden estar incluidos en una composición que incorpore las enseñanzas de la



presente invención. Por ejemplo, una composición de la presente invención puede incluir uno o más de los siguientes: vitaminas, minerales, proteínas o productos naturales (por ejemplo hierbas, hongos, raíces, etcétera) o extractos de estos. En particular, se cree que los polisacáridos proporcionan sinergia adicional en la eficacia de una composición de la presente invención para desarrollar respuestas inmunitarias secundarias en los animales tratados. Los polisacáridos ejemplares están disponibles en forma betaglucanos y extractos de hongos (los cuales, desde luego, incluyen otros componentes).

En otro aspecto, la presente invención incluye un método para procesar o fabricar un producto derivado de un huevo que tenga un factor de transferencia. El método inventivo para procesar o fabricar incluye mezclar un componente considerablemente libre de grasa, como puede ser un producto derivado de calostro, el cual puede o no incluir el factor de transferencia, con el producto derivado de huevo antes o durante el momento en que el producto derivado de huevo se este introduciendo en la fabricación u otro equipo de procesamiento. La encapsulación es un ejemplo de un método de procesamiento o fabricación en el que pueden emplearse estas técnicas.

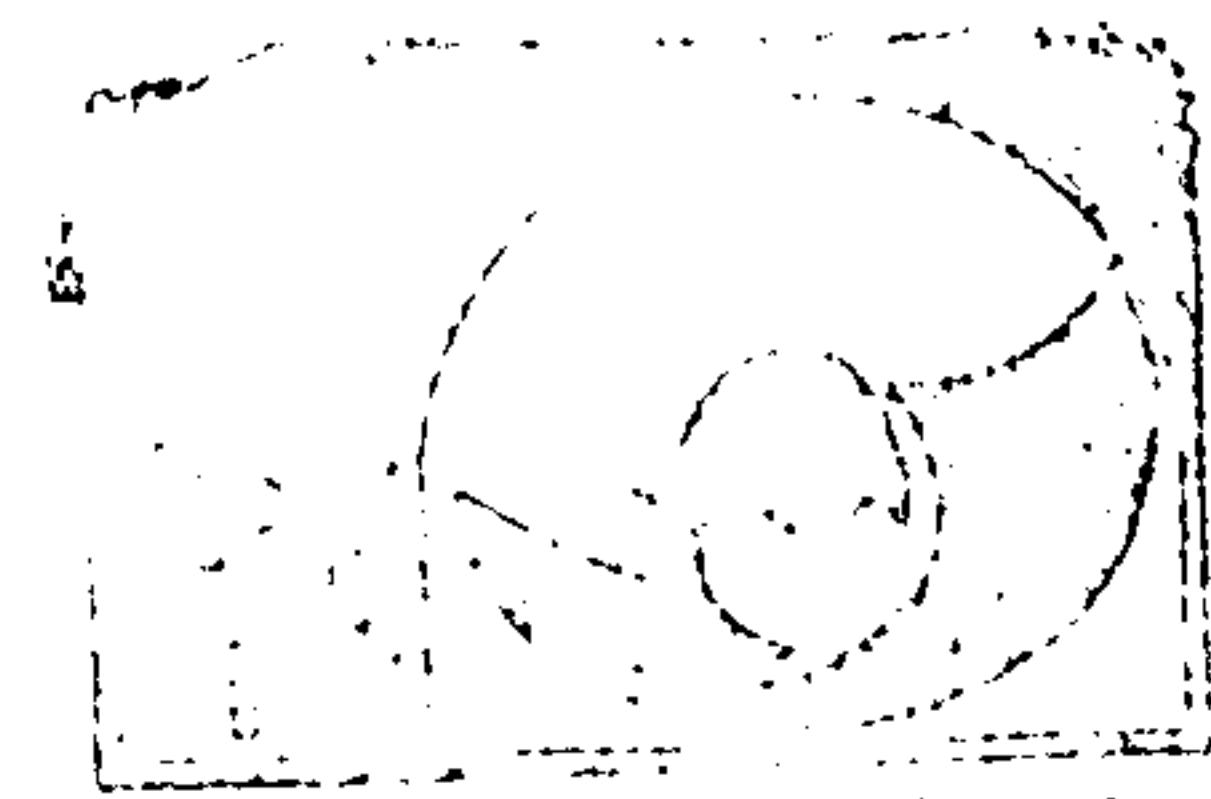


Además, la presente invención incluye un método para reducir la frecuencia de limpieza para el equipo de fabricación o procesamiento, como puede ser el equipo para encapsulación, que se utiliza para procesar un producto derivado de huevo. Este método incluye mezclar una sustancia baja en grasa o prácticamente libre de grasa, como puede ser un producto derivado de calostro, o un producto derivado de huevo antes o durante la introducción del producto derivado de huevo hacia el equipo de procesamiento.

La presente invención también incluye los métodos para tratar a un individuo. Los métodos de tratamiento que incorporan las enseñanzas de la presente invención incluyen la administración de una composición de acuerdo con la presente invención a un individuo. Cuando la composición contiene el factor de transferencia, la administración de la composición al individuo hará que el sistema inmunitario del individuo desarrolle una respuesta inmunitaria mediada por células T o mejore una respuesta inmunitaria medida por células T a través del sistema inmunitario del individuo que se ha puesto en marcha.

Otras características y ventajas de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica





a tomar en cuenta la descripción, los dibujos  
acompañantes y las cláusulas anexas.

Instituto  
de la Propiedad  
Industrial

#### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

5 En los dibujos, los cuales representan modalidades  
ejemplares de los diferentes aspectos de la presente  
invención:

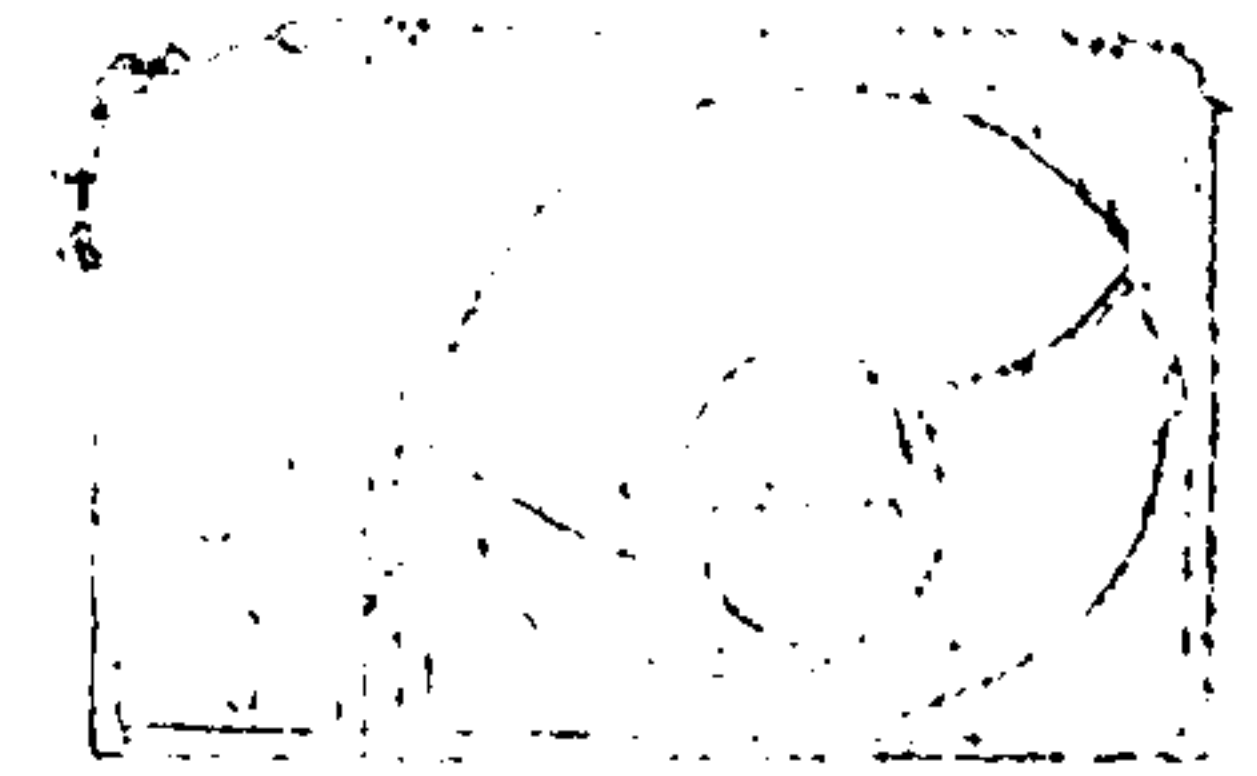
10 La Figura 1 representa un ejemplo de una forma en la  
que se puede incorporar una composición que incorpore las  
enseñanzas de la presente invención;

15 La Figura 2 es una representación esquemática del  
equipo de encapsulación que puede utilizarse para  
introducir una modalidad en polvo de la composición de la  
presente invención en cápsulas de gelatina; y

20 La Figura 3 muestra el esquema de un protocolo de  
prueba ejemplar que fue llevado a cabo para determinar la  
eficacia de los diferentes aspectos de la presente  
invención.

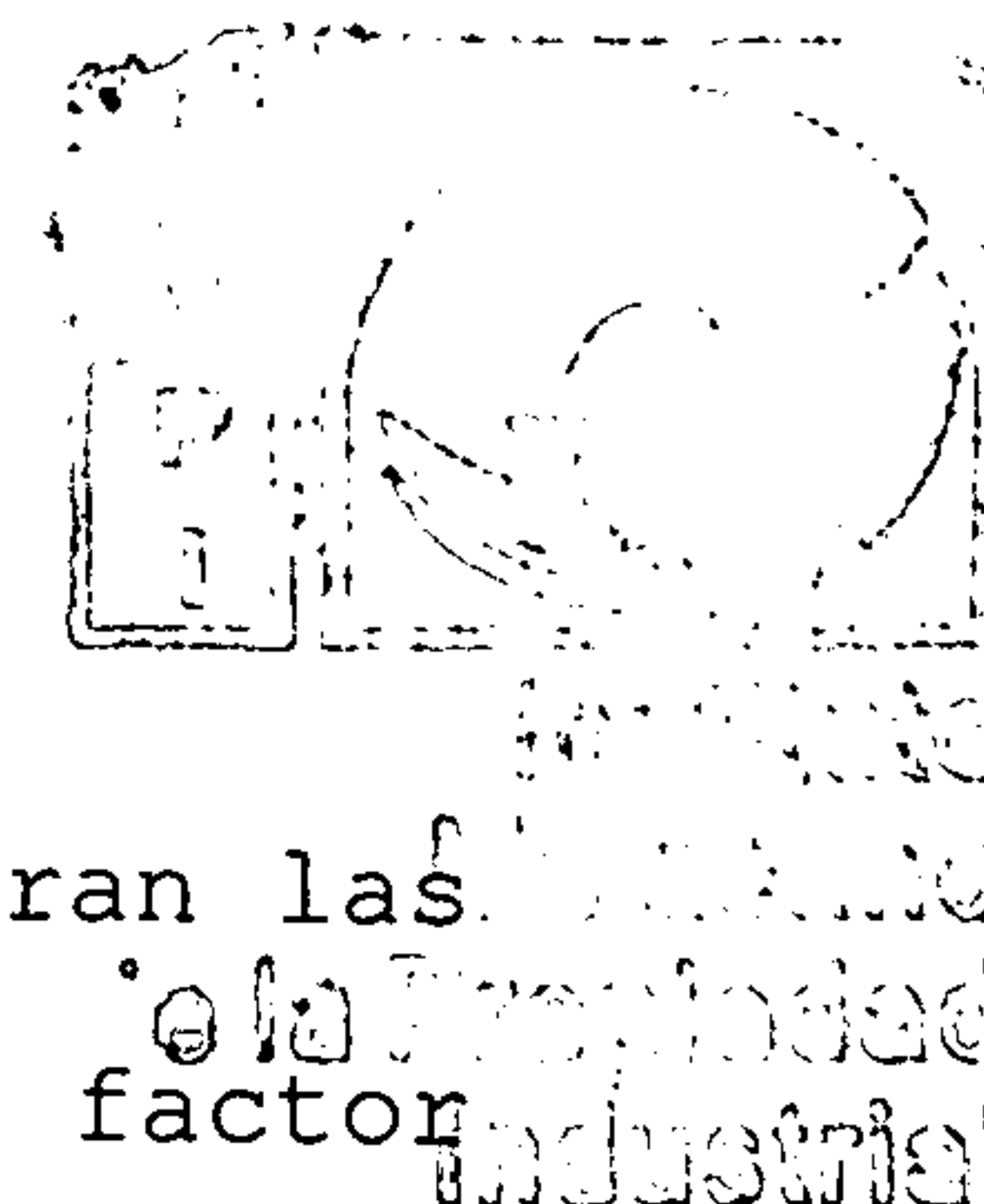
#### MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

25 Una modalidad ejemplar de la composición que  
incorpora las enseñanzas de la presente invención



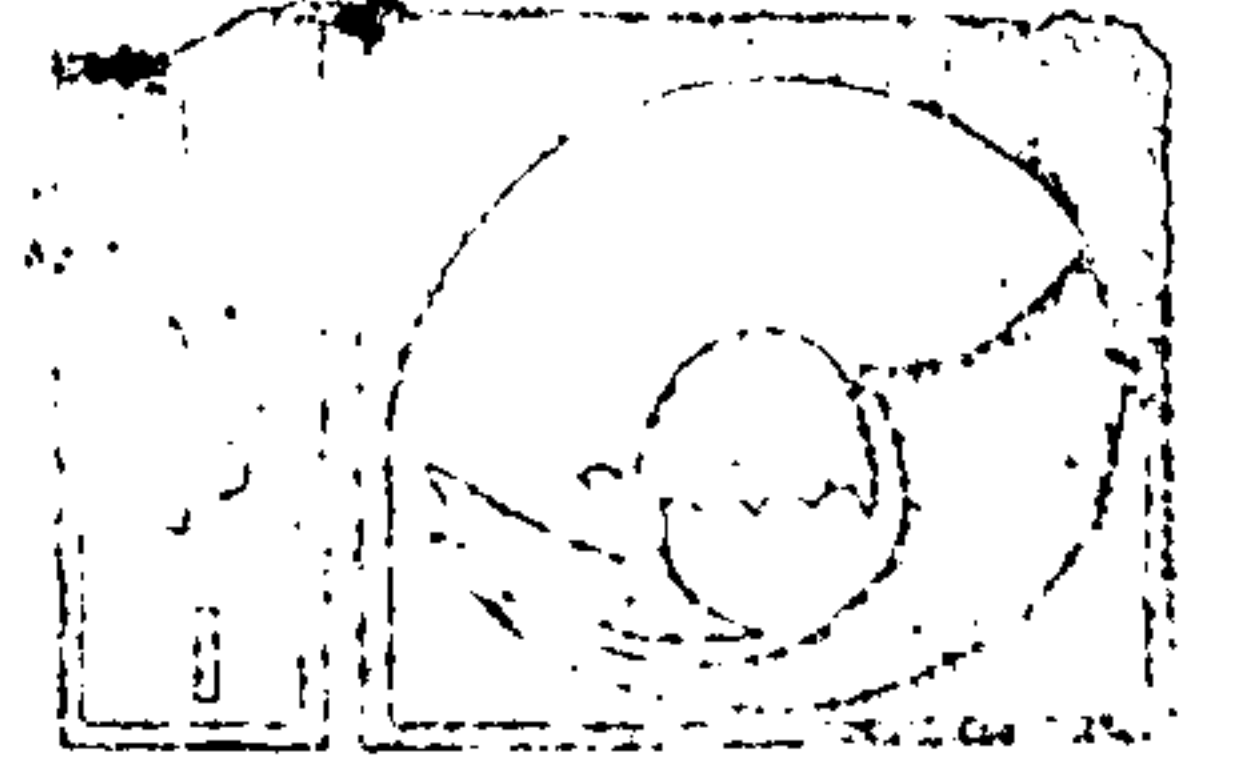
contiene el factor de transferencia de por lo menos dos  
diferentes tipos de animales origen. Como ejemplo  
limitante, una composición de acuerdo con la presente  
invención puede contener factor de transferencia mamífero  
5 y factor de transferencia no mamífero.

Los diferentes tipos de factor de transferencia de  
la composición inventiva pueden obtenerse de cualquier  
origen adecuado. Por ejemplo, el factor de transferencia  
10 mamífero puede obtenerse de calostro, como se describe en  
Wilson o de otro modo como se sabe en la técnica (por  
ejemplo un extracto de leucocitos (células sanguíneas  
blancas, un extracto esplénico ("proceden del bazo"),  
etc.). Una fuente ejemplar de factor de transferencia no  
15 mamífero es un huevo de un animal, como un pollo, como se  
describe en Hennen. Así pues, una composición de acuerdo  
con la presente invención puede contener un primer  
componente que consiste en calostro o una fracción o  
extracto de éste, los cuales se mencionan en forma  
20 colectiva en la presente como "producto derivado de  
calostro", así como un segundo componente que consista en  
huevo o una fracción o extracto de este, los cuales  
también se conocen en la presente como "productos  
derivados de huevo".



En vista de que las composiciones que incorporan las enseñanzas de la presente invención contienen el factor de transferencia de diferentes tipos de animales fuente, estas pueden incluir moléculas de transferencia con un arreglo más amplio de especificidad al antígeno o especificidad al patógeno, comparados con las composiciones que contiene el factor de transferencia convencional. Así pues, una composición de acuerdo con la presente invención puede alistar al sistema inmunitario de un animal tratado para desencadenar una respuesta inmunitaria mediada por células T contra un arreglo más amplio de patógenos comparados con aquellos contra los cuales son eficaces las composiciones que contienen el factor de transferencia convencional. Esto se debe a que diferentes tipos de animales pueden exponerse a diferentes tipos de antígenos o patógenos, como puede ser por vacunación, los entornos del animal o similares. Más aún, se sabe que algunos estados en algunos animales son causados por infección múltiple, incluso extendiendo la especificidad de una composición de acuerdo con la presente invención. Por ejemplo, uno o más patógenos pueden afectar de manera adversa (por ejemplo suprimir o monopolizar) el sistema inmunitario del hospedero, aunque se puede permitir que uno o más patógenos diferentes provoque un estado de enfermedad en el hospedero. Como





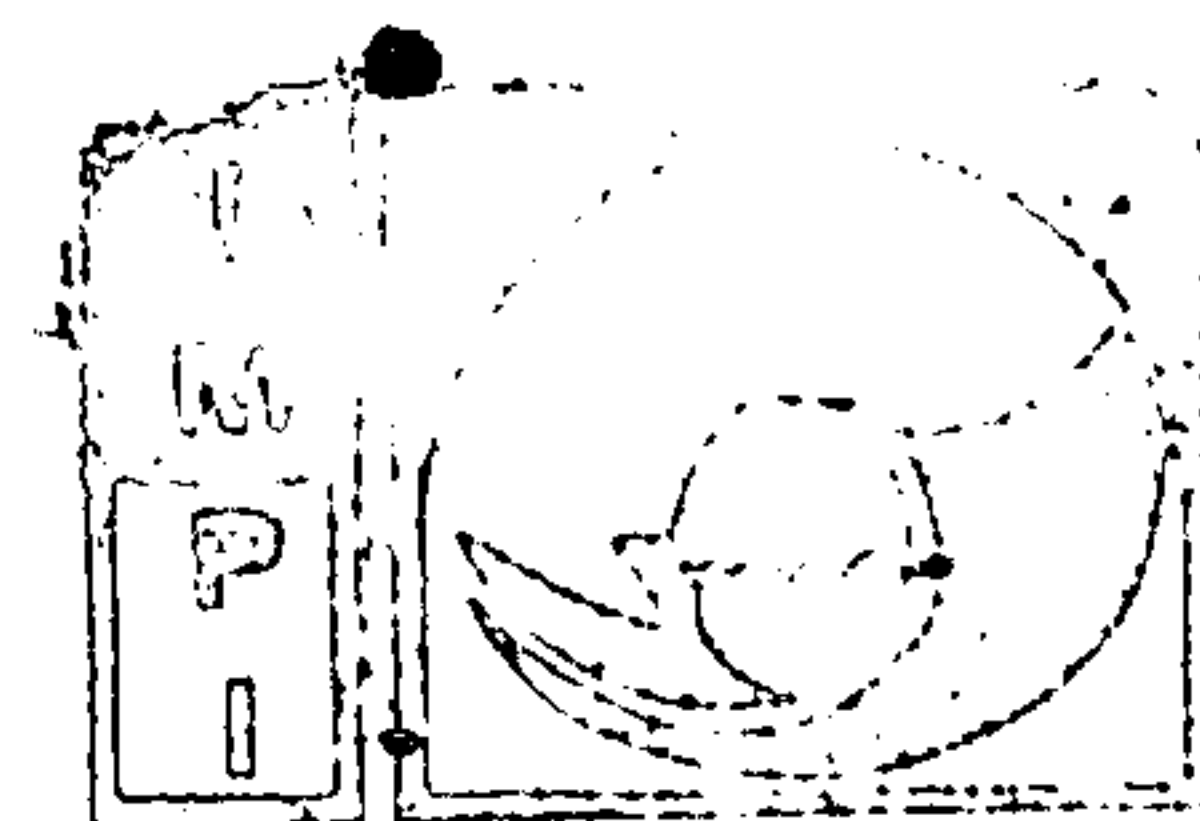
otro ejemplo, algunos estados de enfermedad son provocados por una combinación de patógenos.

Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

5 Como ejemplo, una composición que incluya componentes que contengan factor de transferencia de vacas y pollos incluirá moléculas del factor de transferencia que sean específicas a los antígenos o patógenos a los que se expusieron las vacas, así como moléculas factores de transferencia que tengan  
10 especificidad para los antígenos o patógenos o a los que se expusieron los pollos. Como las vacas y los pollos pueden ser expuestos a los antígenos o patógenos a los que no se exponen al otro, una composición como esta puede contener moléculas factores de transferencia con  
15 especificidades del antígeno patógeno que no estaría presente en una composición que incluya solo factor de transferencia de vacas (por ejemplo de un producto derivado de calostro) o factor de transferencia de pollos (por ejemplo a través de un producto derivado de huevo).

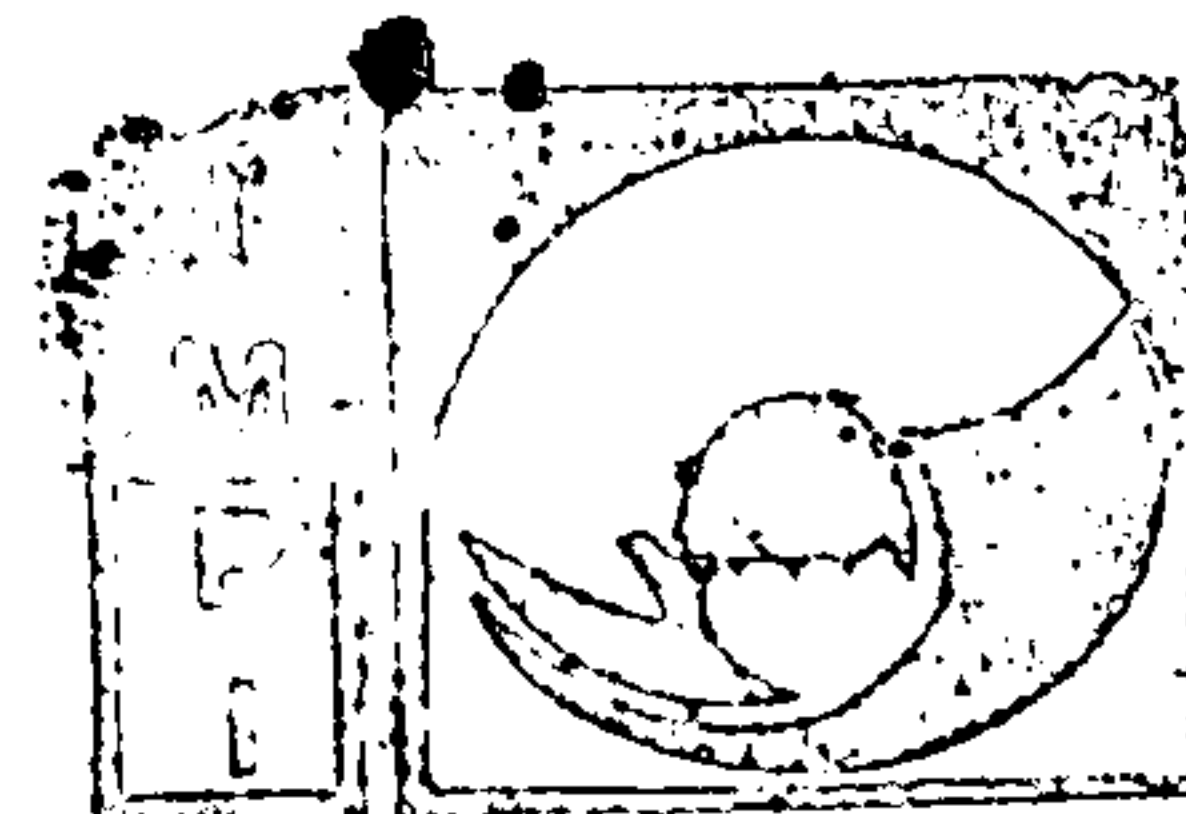
20

Una composición de la presente invención puede incluir aproximadamente las mismas cantidades, medidas en términos de peso o volumen, de un producto derivado de calostro y un producto derivado de huevo (es decir,  
25 aproximadamente 50% del producto derivado de calostro y



aproximadamente 50% del producto derivado de huevo).  
otro modo, una composición que incorpore las enseñanzas  
de la presente invención puede contener aproximadamente  
más producto derivado de calostro (por ejemplo  
5 aproximadamente 35% o 60%, en peso combinado del producto  
derivado de calostro y el producto derivado de huevo)  
comparado con el producto derivado de huevo  
(aproximadamente 15% o 40%, en peso). Como otra  
alternativa, la composición inventiva puede contener más  
10 producto derivado de huevo (por ejemplo aproximadamente  
60% u 85%, en peso) comparado con el producto derivado de  
calostro (por ejemplo aproximadamente 40% o 25% en peso).  
Como otro ejemplo, una composición que incorpore las  
enseñanzas de la presente invención puede contener  
15 aproximadamente 1% en peso, de un producto derivado de  
calostro o un producto derivado de huevo y  
aproximadamente 99% en peso del otro producto derivado de  
calostro o el producto derivado de huevo. Aunque las  
cantidades específicas del producto derivado de calostro  
20 y el producto derivado de huevo han sido proporcionadas,  
cualquier combinación de estas dentro del alcance de la  
presente invención.

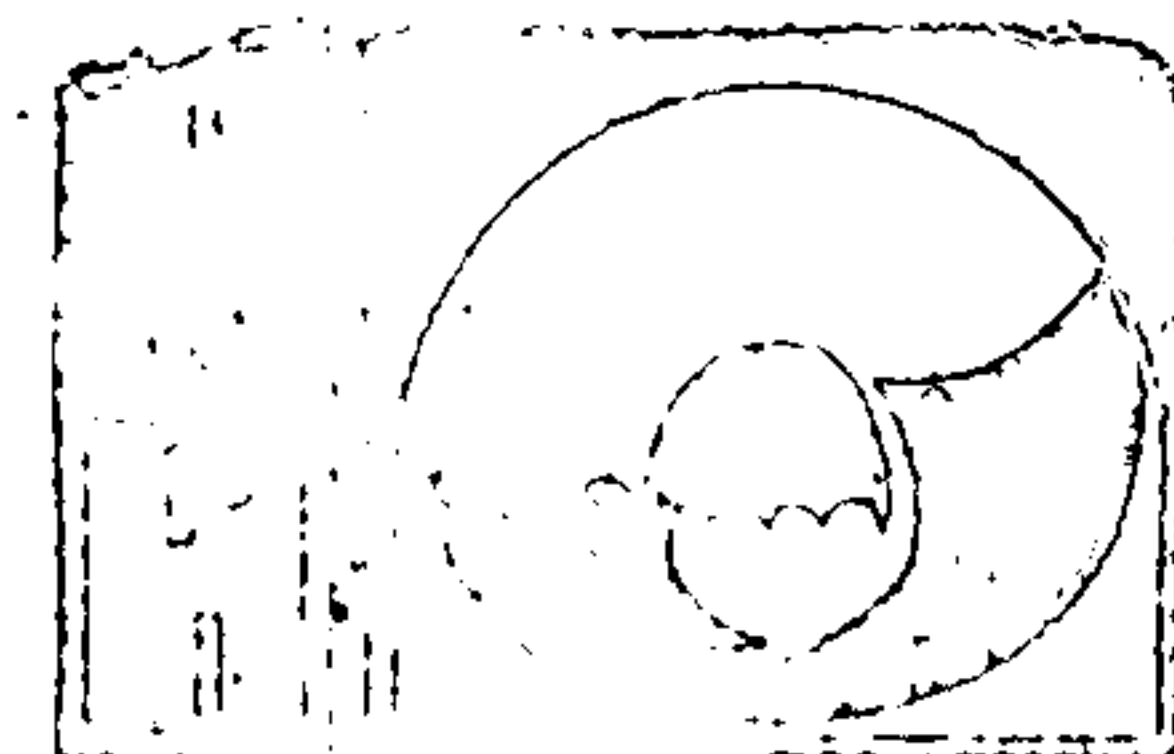
Además, de contener una fuente de factor de  
25 transferencia (por ejemplo un producto derivado de



calostro, un producto derivado de huevo, etc.), una composición que incorpore las enseñanzas de la presente invención puede contener uno o más ingredientes diferentes, que incluye, pero no se limita a, vitaminas, minerales, proteínas, productos naturales (por ejemplo hierbas, hongos, raíces, etc., o extractos de éstos), y similares. Los ingredientes adicionales pueden ser útiles para obtener otras ventajas para los individuos a los que se administra la composición, o puede intensificar la habilidad del factor de transferencia en la composición para desarrollar o intensificar una respuesta inmunitaria secundaria o hipersensibilidad de tipo retardado.

Como se muestra en la Figura 1, sin limitar el alcance de la presente invención, una composición de acuerdo con la presente invención puede tomar la forma de una sustancia en polvo o en partículas, la cual incluye los múltiples tipos de factores de transferencia (no se muestra). Para garantizar que se administre a un individuo (no se muestra) una dosis apropiada y precisa de la composición 10, la composición 10 puede estar contenida dentro de una cápsula de gelatina de un tipo que es bien conocido y fácilmente disponible para los expertos en la técnica. El resultado es la cápsula 14 ilustrada. De otro modo, una composición de acuerdo con





Instituto

Mexicano

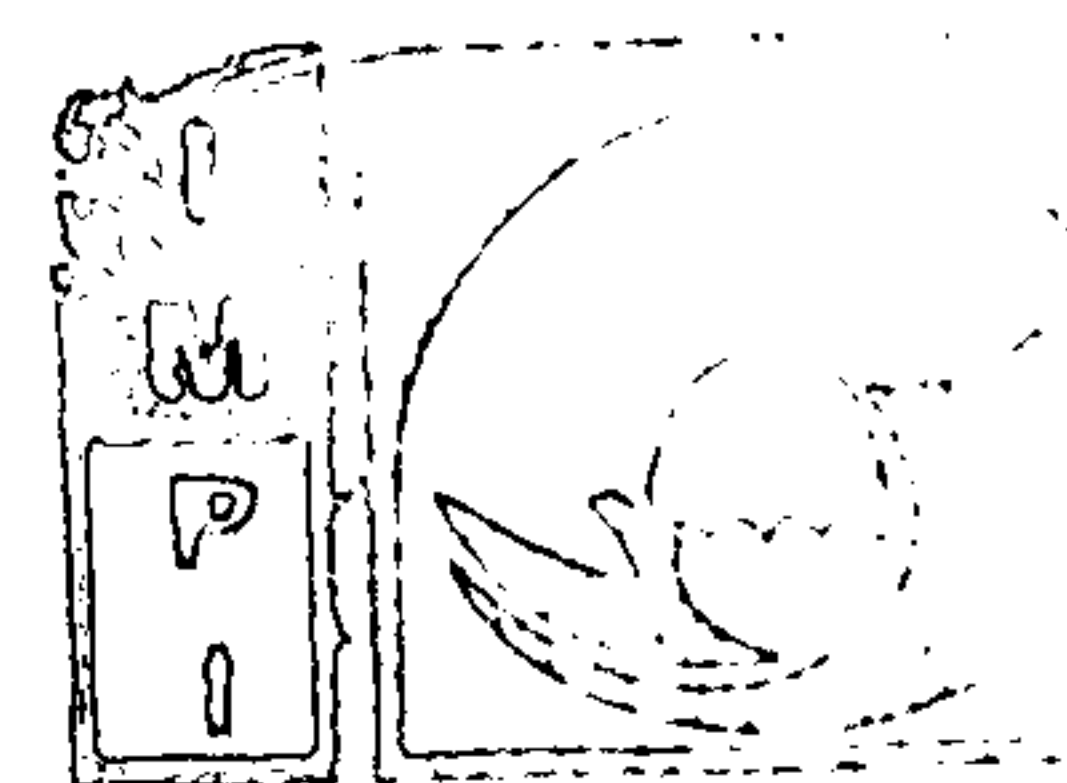
de Propiedad

Industrial

la presente invención puede ser incorporada como tableta,  
una denominada, "caplet", un polvo no encapsulado,  
líquido, un gel o en cualquier otra forma aceptada para  
uso farmacéutico. Los procesos adecuados para poner la  
5 composición inventiva en cualquier forma de estas son  
evidentes para los expertos en la técnica.

En una modalidad ejemplar de un método para preparar  
o formar una composición de acuerdo con la presente  
10 invención, un primer tipo de factor de transferencia  
puede combinarse con un segundo tipo de factor de  
transferencia. Además, uno o más tipos diferentes de  
factor de transferencia pueden combinarse con un primer y  
segundo tipos de factor de transferencia. Los diferentes  
15 tipos de factor de transferencia que se combinan pueden  
ser factor de transferencia considerablemente purificado,  
los componentes o "productos" que contengan el factor de  
transferencia, o cualquier combinación de éstos.

20 Regresando de nuevo a la Figura 2, un proceso para  
formar cápsulas llenadas con la composición 14, como  
puede ser la que se muestra en la Figura 1, se  
proporciona solo como un ejemplo de un método para  
preparar una composición que incorpore las enseñanzas de  
25 la presente invención. Como se muestra, se prepara la

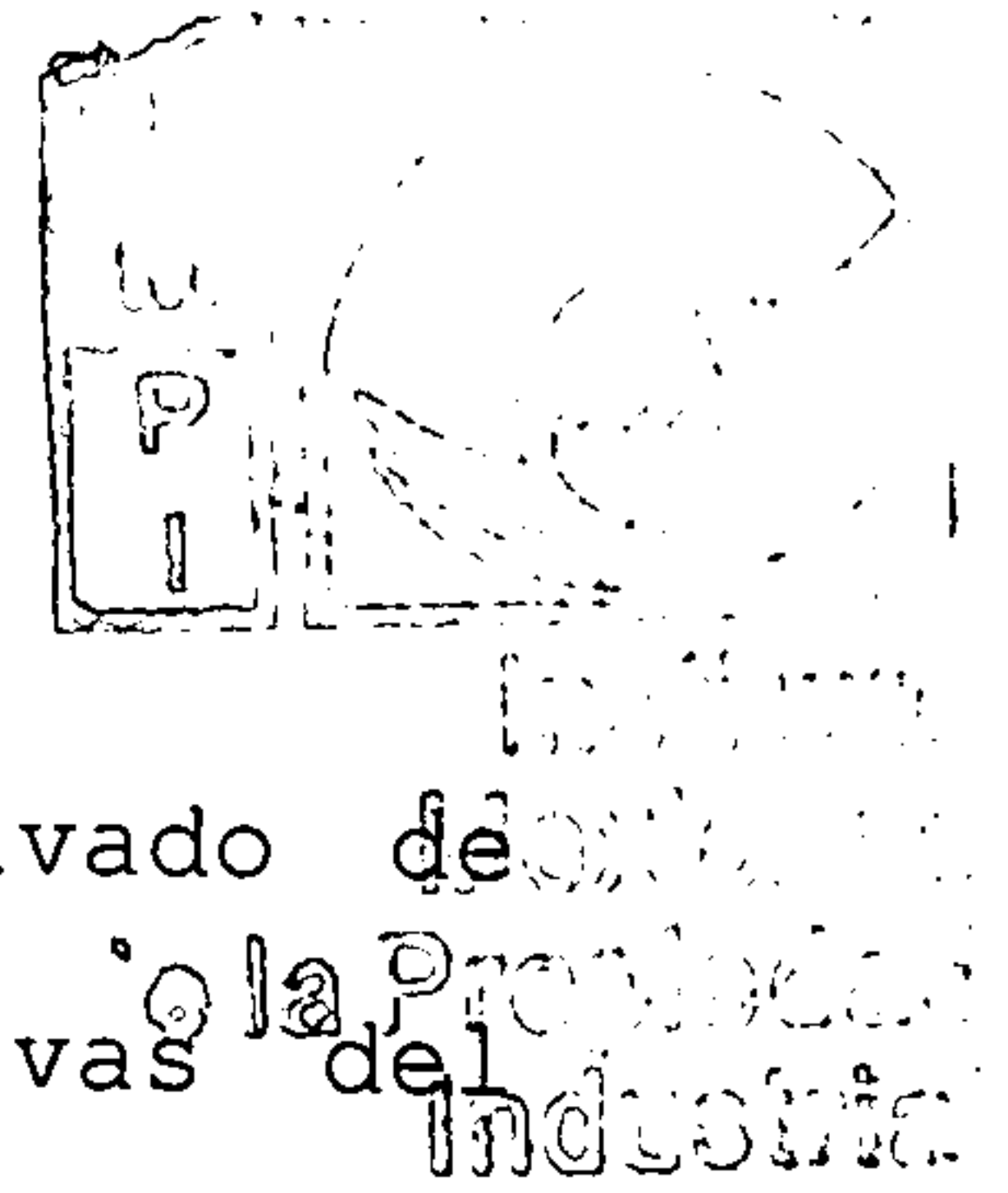


Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

composición 10 y se forman las cápsulas rellenas con la  
composición 14 utilizando el equipo de encapsulación  
normal 20 de un tipo conocido en la industria, como puede  
ser la máquina llenadora de cápsulas SF-135 disponible de  
5 CapPlus Technologies de Phoenix, Arizona.

Además de una o más tolvas alimentadoras de la  
composición 24, un tornillo sinfín 26 asociado con cada  
tolva alimentadora de la composición 24 y una estación  
10 alimentadora 28 con la cual se comunica cada tornillo  
alimentador 26 y el conducto 27 dentro de cada tornillo  
alimentador 26, el equipo para encapsulación 20 incluye  
una o más tolvas de cápsulas 30, así como un sistema  
alimentador neumático 32 para transportar los cuerpos de  
15 las cápsulas 12a y/o 12b a la estación alimentadora 28.

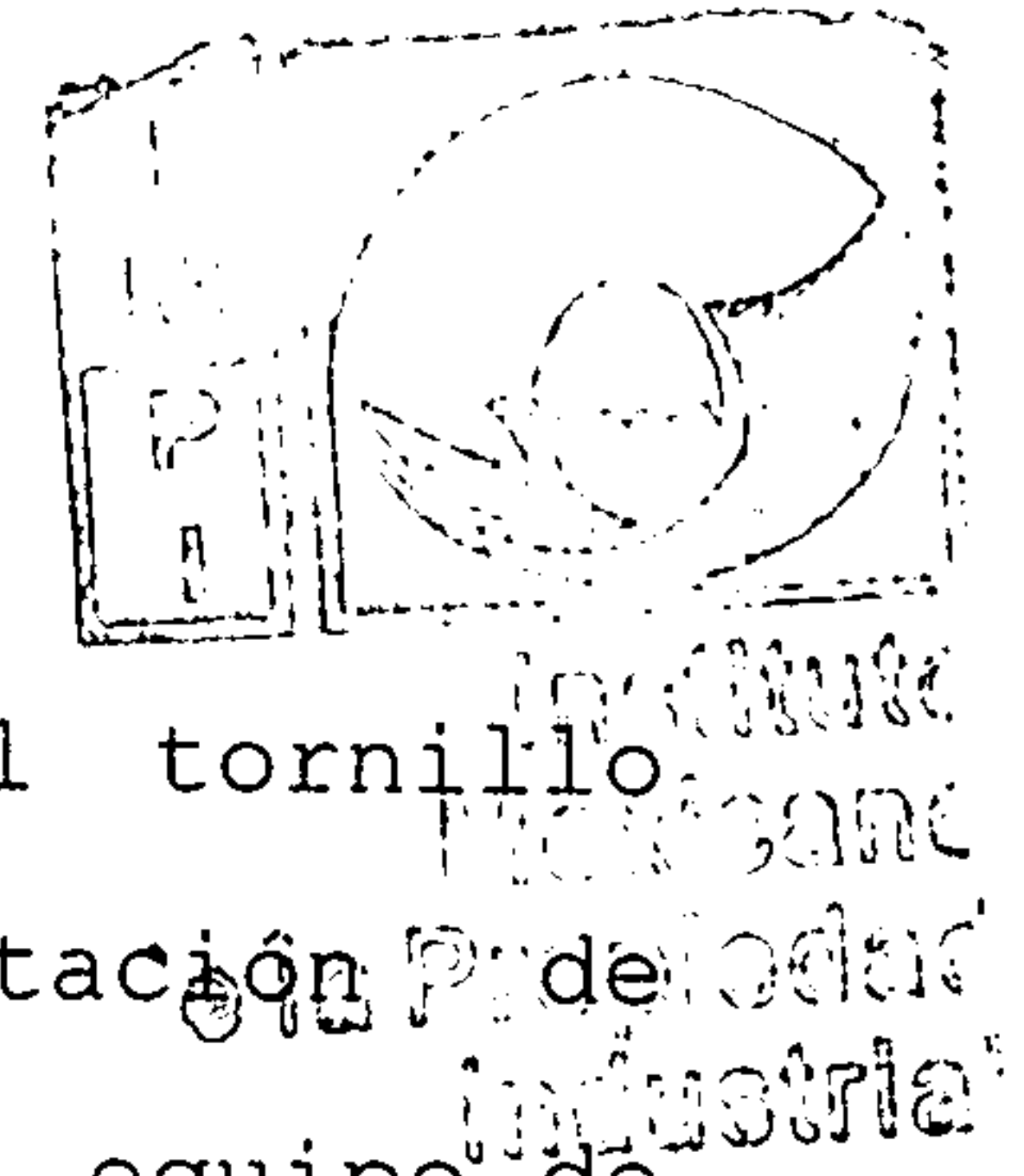
En vista de que el equipo de encapsulación  
introducirá la mezcla en cápsulas, las cuales pueden ser  
deglutidas por un individuo, actualmente se prefiere que  
20 el componente prácticamente libre de grasa y el producto  
derivado de huevo se introduzcan en el equipo de  
encapsulación en forma de polvo. El componente  
considerablemente libre de grasa diluye la cantidad, o  
concentración de grasa (por ejemplo de la yema de huevo)  
25 presente en la mezcla en relación con la concentración de



grasa que estará presente en el producto derivado de  
huevo. Por consiguiente, las cantidades relativas  
producto considerablemente libre de grasa y el producto  
derivado de huevo pueden ser diseñadas para obtener una  
5 concentración de grasa que lleve al mínimo la obstrucción  
del equipo de encapsulación.

El ejemplo de una composición 10 que contiene un  
producto derivado de calostro 10a como el componente  
10 considerablemente libre de grasa y un producto derivado  
de huevo 10b, el producto derivado de calostro 10a y el  
producto derivado de huevo 10b pueden ser introducidos al  
mismo tiempo en una sola tolva alimentadora de la  
composición 24 del equipo de encapsulación 20. Por  
15 ejemplo, el producto derivado de calostro 10a y el  
producto derivado de huevo 10b pueden mezclarse luego de  
la introducción de este en la tolva alimentadora de la  
composición 24, como se muestra, o pueden estar  
premezclados. Al introducir una sustancia que tenga un  
20 menor contenido de grasa que el producto derivado de  
huevo 10b en la tolva alimentadora de la composición 24  
junto con el producto derivado de huevo 10b, el contenido  
de grasa (por ejemplo la concentración) de la mezcla  
resultante es menor que el producto derivado de huevo  
25 10b, reduciendo o eliminando la probabilidad de que la





tolva alimentadora de la composición 24, el tornillo  
alimentador 26, el conducto 27, la estación  
alimentación 28 o cualquier otro componente del equipo de  
encapsulación 20 sea recubierto con colesterol o grasa.

5

Luego de la introducción de una cantidad  
predeterminada de composición 10 en los cuerpos de la  
cápsulas 12a de la estación de alimentación, los cuerpos  
de la cápsula rellenos 12a son transportados a una  
estación de cierre de cápsulas 34 donde las capas de las  
cápsulas 12b se ensamblan con estas para contener  
completamente la composición 10 dentro de la cápsula 12.

De nuevo, una cápsula llena de la composición 14 es  
solo un ejemplo de la forma en la que una composición que  
incorpore las enseñanzas de la presente invención puede  
incorporarse. La composición inventiva también puede  
tomar otras formas, como tabletas, cápsulas, polvo  
suelto, líquido, gel, cápsulas llenas de líquido o llenas  
de gel, cualquier otra forma aceptada para uso  
farmacéutico conocida en la técnica, cada una de las  
cuales puede prepararse por los procesos conocidos.

La composición de la presente invención se puede  
administrar a un individuo (por ejemplo mamífero, como un



Instituto

Mexicano

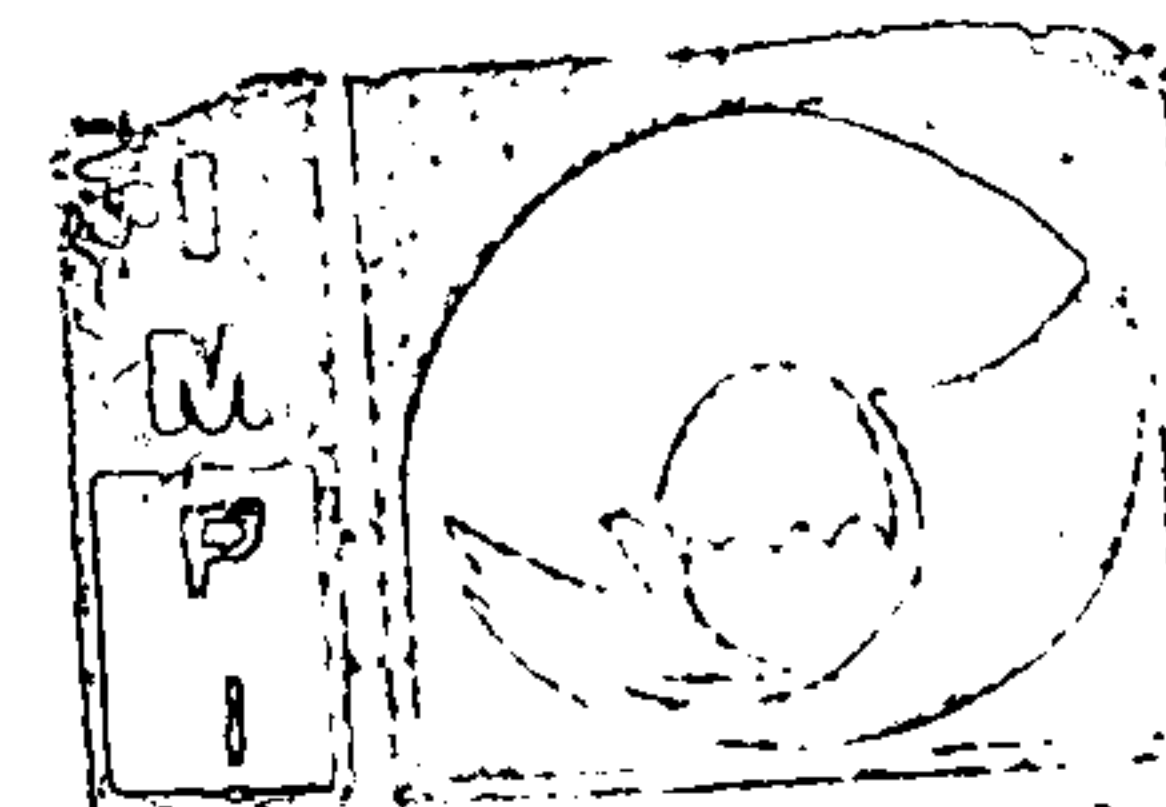
de la Propiedad

Industrial

humano, un perro o gato, un ave, un reptil, un pez, etcétera) por cualquier proceso conveniente (por ejemplo por vía entérica, parenteral etcétera), dependiendo, desde luego, de la forma de esta. Por ejemplo, prácticamente cualquier forma de la composición (por ejemplo una cápsula, tableta, caplet, polvo, líquido, gel, etcétera) puede administrarse por vía oral (es decir, a través de la boca del individuo), siempre que la composición contenga un portador aceptado para uso farmacéutico de un tipo conocido en la técnica que evite la degradación o destrucción de las moléculas factor de transferencia por las condiciones que prevalecen en el aparato digestivo del individuo sin interferir considerablemente con la eficacia de las moléculas factor de transferencia incluidas en la composición.

La dosis de la composición, o el factor de transferencia dentro de la composición, que se administra al individuo pueden depender de diversos factores que incluyen, sin limitación, el peso del individuo, la salud del individuo o las condiciones (por ejemplo patógenos) a los que se expone al individuo.

La administración de la composición al individuo puede provocar que el sistema inmunitario del individuo



desencadene una respuesta inmunitaria mediada por células T contra uno o más antígenos o patógenos. Así pues, la composición se puede administrar a un individuo para tratar un estado de enfermedad que este experimentando el individuo, para prevenir que el individuo presente un estado de enfermedad causado por un patógeno específico, o simplemente para potenciar la salud general del sistema inmunitario del individuo y las capacidades para combatir patógenos infecciosos o invasores.

10

Los siguientes ejemplos muestran la habilidad mejorada de una composición que contiene factores de transferencia de múltiples tipos de animales fuente para hacer que un sistema inmunitario de un individuo tratado desencadena una respuesta inmunitaria mediada por células T a diferentes tipos de patógenos en forma de células diana. Las proporciones utilizadas en los ejemplos se basan en el peso del material (por ejemplo el polvo de huevo, polvo de calostro) utilizado en la muestra de prueba particular.

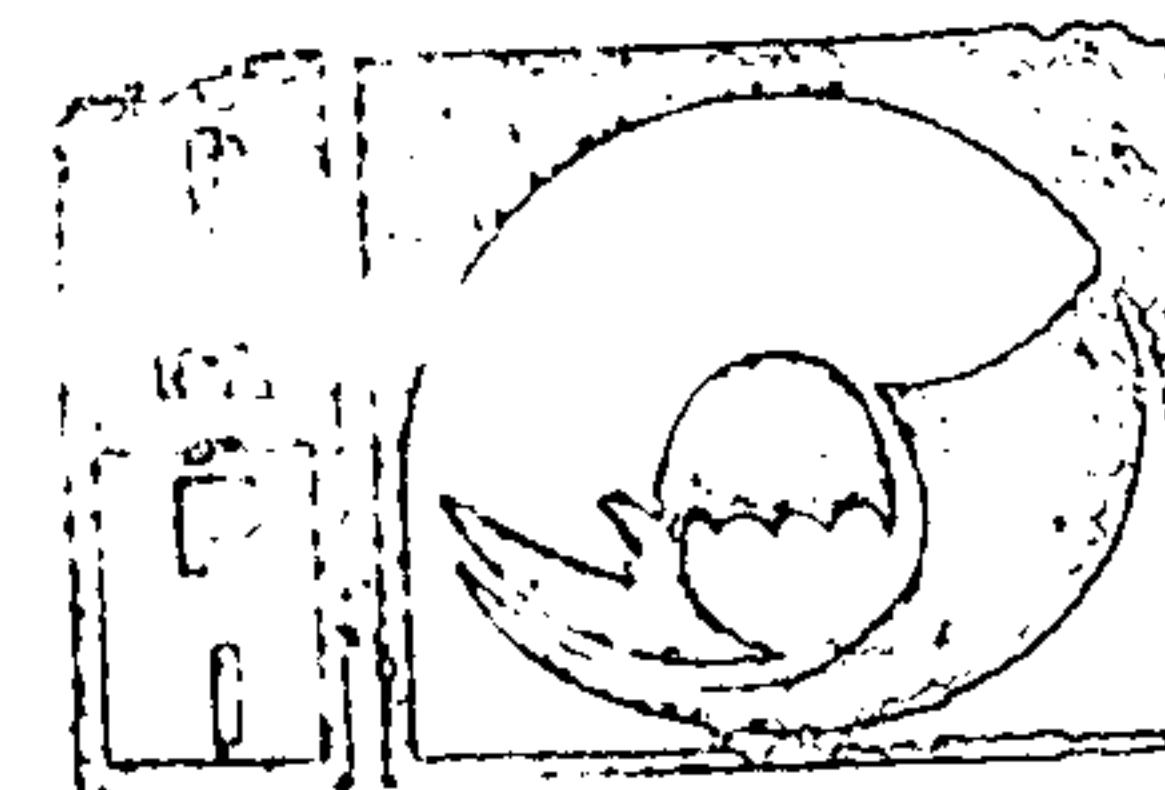
20

#### EJEMPLO 1

En el Ejemplo 1, una prueba preliminar, las células diana incluyeron bacterias (por ejemplo *C. pneumoniae* y *H. pylori*) y virus (por ejemplo virus de herpes simple 1

25





Instituto  
Mexicano  
de Propiedad  
Industrial

(HSV-1) y virus de herpes simple 2 (HSV-2)) en forma de células infectadas por virus, así como células cancerosas, o malignas, (por ejemplo las células eritroleucemicas K562).

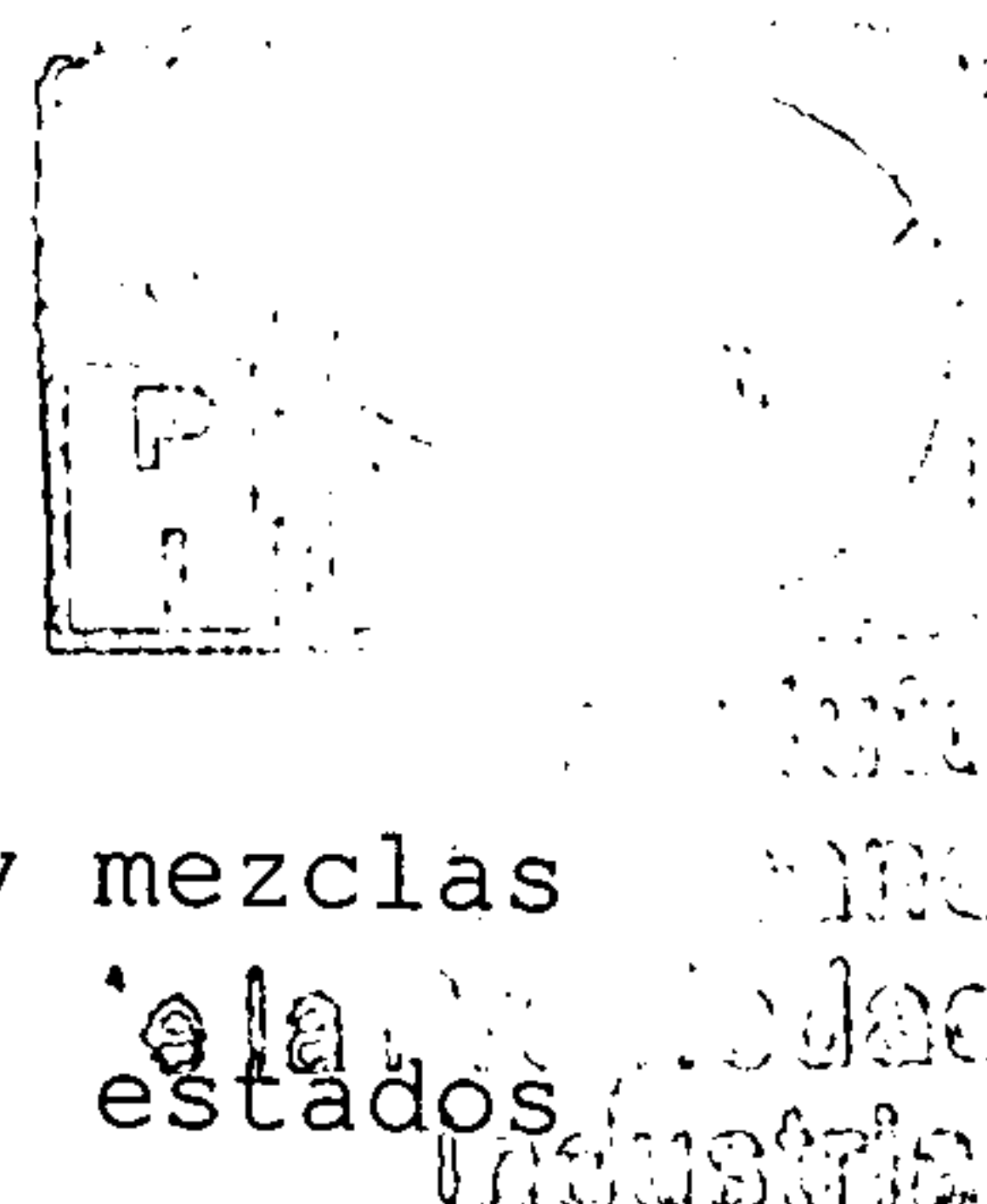
5

La técnica *in vitro* que se utilizó para hacer estas determinaciones fue el denominado "ensayo de liberación de cromo 51", que consiste en medir la cantidad de cromo 51 radioactivo (Cr-51) liberado por las células que han sido atacadas por células NK. La medición de la radioactividad puede obtenerse, por ejemplo, con un contador Ganma Counter 2000, el cual esta disponible de Beckman Coulter, Inc., de Fullerton California.

15

En el Ejemplo 1, que fue una prueba preliminar, una cantidad determinada (5 microgramos por mililitro de medio nutriente y medio celular) de una composición en polvo fue proporcionada en medio nutriente y medio celular, junto con una cantidad considerablemente fijas de células NK. Los ejemplos de las composiciones en polvo que se utilizaron incluyen harina de trigo blanqueada, Transfer Factor™ (TF) disponible de 4Life Research, LLC, de Sandy, UTA, Transfer Factor Plus™ (TFP o TF+), también disponible de 4Life Research, factor de transferencia aviario disponible en un polvo de huevo completo

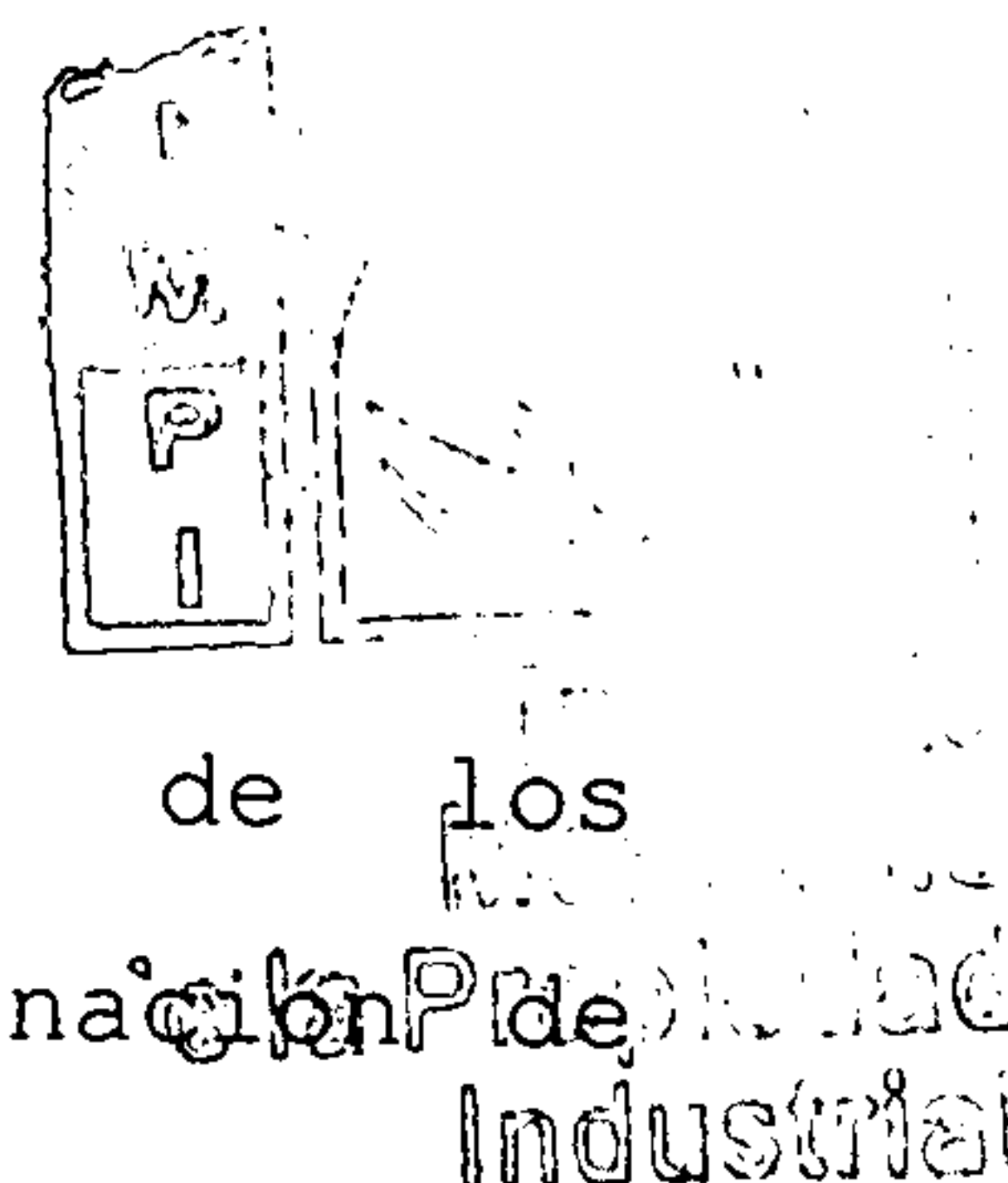
25



liofilizado (es decir, secado por congelación), y mezclas  
de TF y TFP (ambos la fórmula comercializada en estados  
unidos y que se comercializo internacionalmente) con  
factor de transferencia aviario en una proporción de  
5 aproximadamente 85% de TF o TFP (es decir, el factor de  
transferencia bovino), en peso, a aproximadamente 15% de  
factor de transferencia aviario, en peso. La composición  
en polvo, los medios nutrientes, las células NK y las  
células diana se mezclaron e incubaron durante 4 horas  
10 antes de medir los átomos radioactivos que se liberaron  
por el rompimiento de las células diana a través de las  
células NK. Cada reacción ejemplar fue realizada por  
triplicado, habiendo promediado los resultados de las  
tres reacciones.

15

Además de incluir uno o más tipos de factor de  
transferencia, el TF+ incluye una variedad de otros  
componentes, como los hongos maitake y shiitake cordyceps,  
hexafosfato de inositol, beta glucanos, beta sitosterol, y  
20 extracto de hojas de olivo. Los hongos maitake y shiitake  
son conocidos como buena fuente de polisacáridos y para  
favorecer la función de las células T. El cordyceps  
también es rico en polisacáridos. Los beta glucanos, otra  
clase de polisacáridos, también son conocidos como  
25 importantes estimuladores de células inmunitarias.



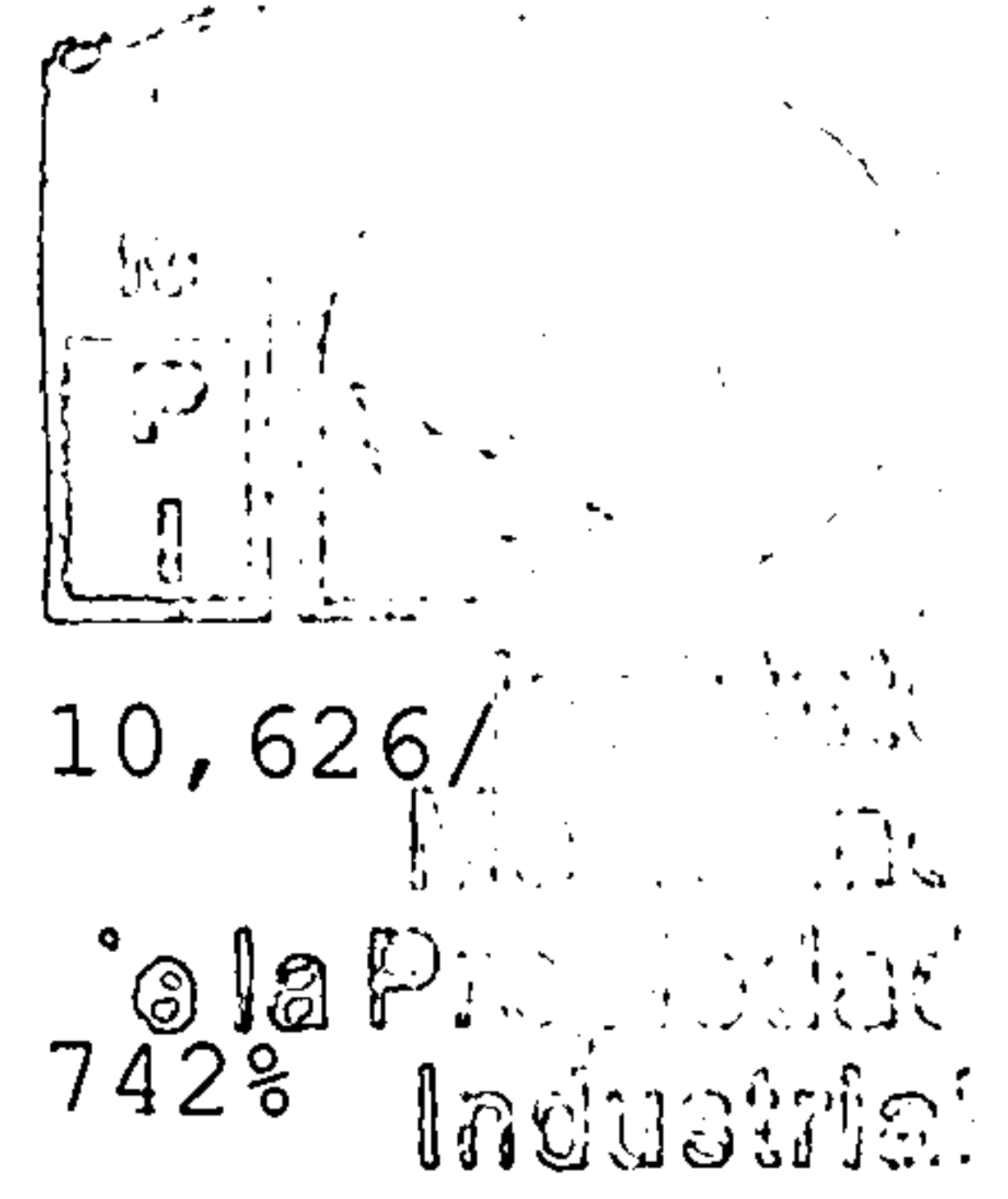
La siguiente tabla contiene los datos de los recuentos por minuto obtenidos con cada combinación de células diana y la composición en polvo, así como la eficacia de cada composición en polvo para desencadenar una respuesta inmunitaria medida por células NK contra las células diana en relación con la respuesta inmunitaria mediada por células NK en relación con (medido en por ciento de aumento) los mismos tipos y concentraciones de células diana en presencia de harina de trigo blanqueada.

## EJEMPLO 1

TABLA 1

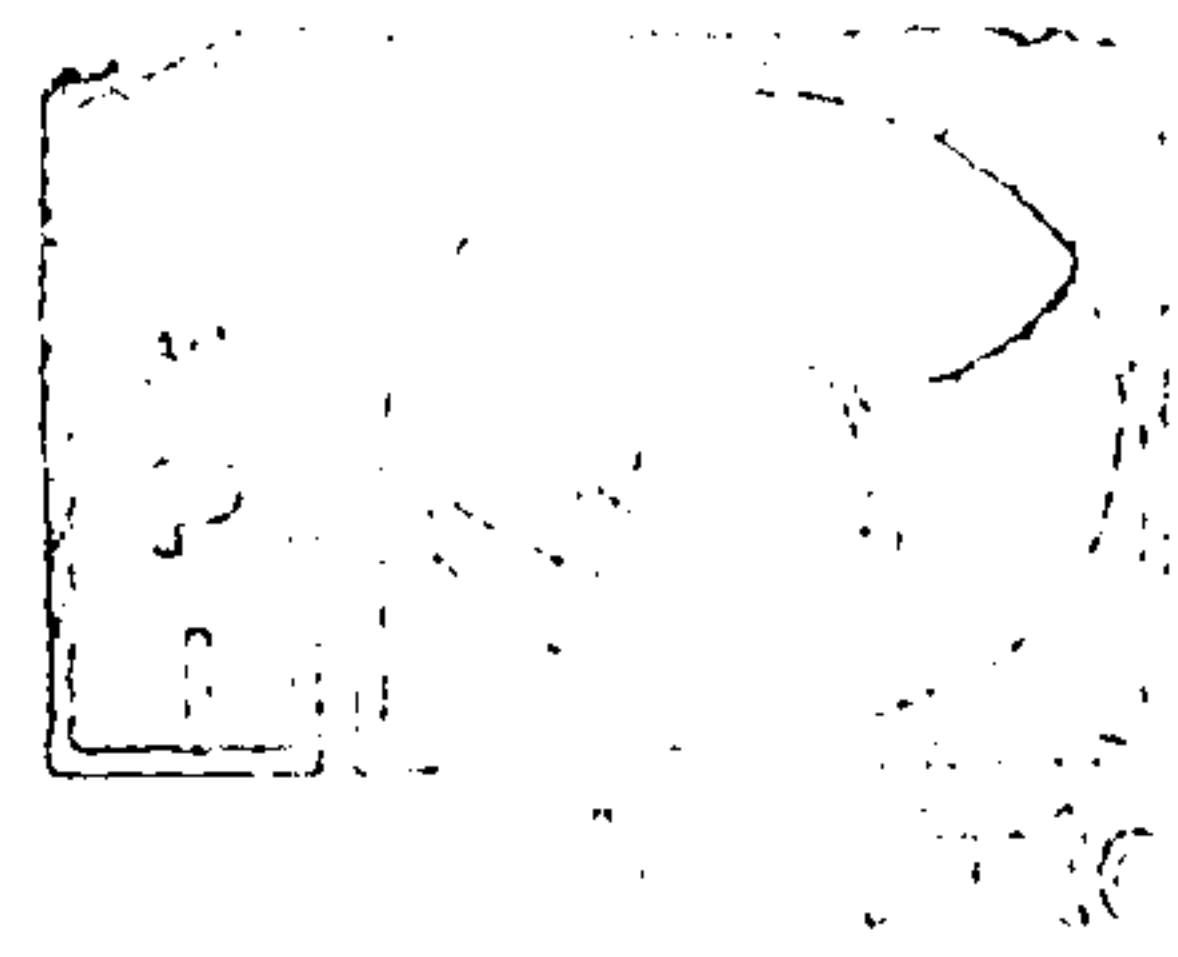
	<b>Células diana</b>				
	C. Pneu	H. Pyl	K562	HSV-1	HSV-2
Composición					
Esponáneo	1,256/	1,875/	1,20/	974/	1,476/
Harina	1,323/	1,121/	1,267/	2,017/	1,262/
Promedio	1,290/	1,498/	1,444/	1,496/	1,365/
TF	2,593/	2,499/	2,445/	2,240/	2,473/
% aumento sobre harina	96%	123%	93%	11%	96%
% aumento sobre promedio	101%	67%	69%	50%	81%
TF+	3,386/	2,701/	3,243/	2,944/	1,956/
% aumento sobre harina	156%	141%	156%	46%	55%
% aumento sobre promedio	163%	80%	125%	97%	43%





Bov-Av TF	14,857/	11,434/	6,639/	17,910/	10,626/
% aumento sobre harina	1023%	920%	424%	788%	742%
% aumento sobre promedio	1052%	663%	360%	1098%	679%
Bov-Av					
TF+ US	6,196/	5,543/	4,008/	8,050/	4,693/
% aumento sobre harina	458%	485%	306%	389%	362%
% aumento sobre promedio	380%	270%	178%	438%	244%
Bov-Av					
TF+ Intl	5,747/	4,786/	3,640/	7,366/	4,269/
% aumento sobre harina	424%	417%	277%	355%	328%
% aumento sobre promedio	346%	219%	152%	393%	213%
100%					
TF aviario	2,553/	1,860/	2,483/	2,985/	2,183/
% aumento sobre harina	93%	66%	96%	48%	73%
% aumento sobre promedio	98%	24%	72%	100%	60%

Es importante destacar que las formulaciones con la denotación "TF+" contiene solo aproximadamente la mitad de (0.46667) del factor de transferencia respecto al que esta presente en las formulaciones indicadas "TF". Por consiguiente, una persona con las habilidades ordinarias en la técnica esperaría los datos que corresponden a la



citotoxicidad inducida por los productos identificados como "Bov-Av TF+ US" y "Bov-Av TF+ Intl" sean menores que la citotoxicidad inducida por el producto identificado como Bov-Av TF. En cambio, estos números fueron muy superiores. De hecho, parecer ser que los datos que corresponden a "Bov-Av TF+ US" y "Bov-Av TF+ Intl" como aproximadamente 10 veces demasiado altos. Por consiguiente, se han hecho las correcciones apropiadas de la Tabla 1. Además, se han llevado a cabo otras pruebas, como es evidente que los ejemplos siguientes, para evaluar y comprobar las habilidades de las combinaciones de diferentes tipos de factor de transferencia para desencadenar las respuestas a las células T en animales tratados.

Los resultados preliminares que se establecen en la Tabla 1 muestran que la administración de una composición de la presente invención a un individuo probablemente aumentará la respuesta inmunitaria secundaria del individuo, o hipersensibilidad de tipo retardado, como la efectuada por las células NK, contra uno o más patógenos hasta un grado que supere con mucho la actividad de las células NK iniciada por el factor de transferencia derivado de calostro y el factor de transferencia derivado de huevo, solos. De hecho, los resultados



muestran que una composición que incorpora las enseñanzas de la presente invención puede dar como resultado la facilitación de la actividad de las células NK con un grado de sinergia inesperado.

5

En vista de estos resultados se llevo a cabo más experimentación para determinar la eficacia de un intervalo más amplio de aspectos de la presente invención.

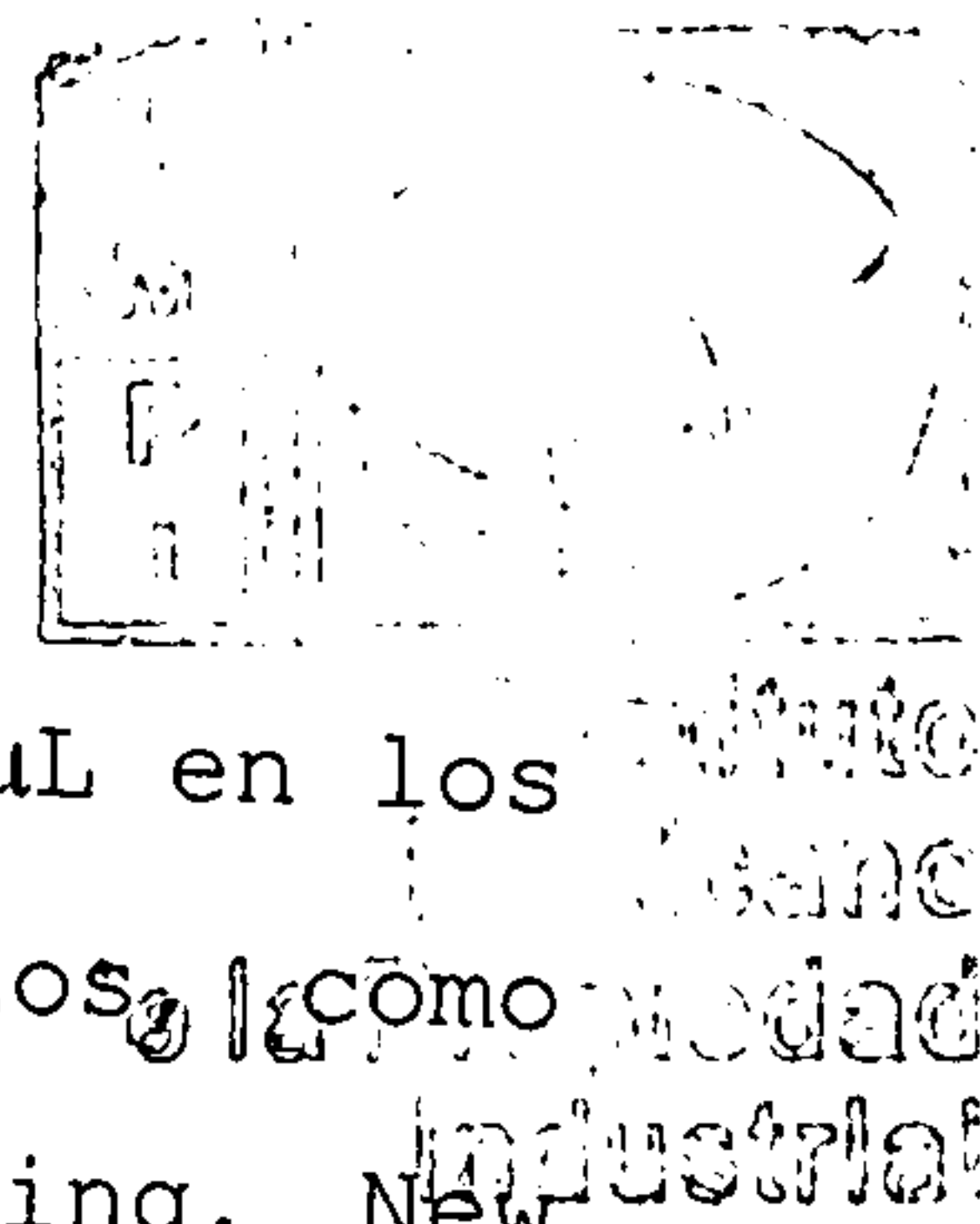
10

#### EJEMPLO 2

Se evaluaron los efectos de las diferentes composiciones de factor de transferencia, incluidas las composiciones que incorporan las enseñanzas de la presente invención, sobre la actividad de los linfocitos para atacar células cancerosas. La Figura 3 representa el esquema del protocolo para la graduación. Se obtuvo sangre de donadores sanos, en la referencia 40. Las células mononucleares, incluidas las células asesinas naturales, fueron suspendidas de otros constituyentes de la sangre, en el número de referencia 42, mediante la metodología de ficol-urografina normal, empleando un gradiente de densidades  $\rho = 1,077 \text{ g/cm}^3$ . Las células mononucleares aisladas, o "células efectoras", en una dilución de aproximadamente 60,000 células/100  $\mu\text{L}$  de medio de cultivo,

25





entonces fueron introducidas en alícuotas de 100  $\mu$ L en los pozos de una placa de microtitulación de 96 pozos, las disponibles de Corning Incorporated of Corning, New York, con el nombre comercial COSTAR®, como se muestra en el número de referencia 44.

Después, las muestras de prueba que contenían factor de transferencia, o "aditivos" como se indica en la Tabla 2 a la 5 más adelante, fueron introducidas en cada pozo, con las concentraciones resultantes de las muestras de prueba de 1 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.01 mg/mL, 0.001 mg/mL, 0.00001 mg/mL y 0.000001 mg/mL, como también se muestra el número de referencia 44. También se emplea un control que no contenía el producto factor de transferencia. Las placas de microtitulación fueron luego colocadas en un incubador de CO<sub>2</sub> con condiciones de 5% de CO<sub>2</sub> de la atmósfera, 100% humedad y una temperatura de 37°C, y se incubaron durante tiempos de 24 horas y 48 horas. Cada variable del estudio se llevó a cabo en triplicado.

Después de la incubación, aproximadamente 30,000 células de tumor K-562 (es decir, leucemia humana eritroblastótica), o "células diana", fueron introducidas en cada pozo, como se muestra en el número de referencia 46, obteniéndose una relación de células efectoras a

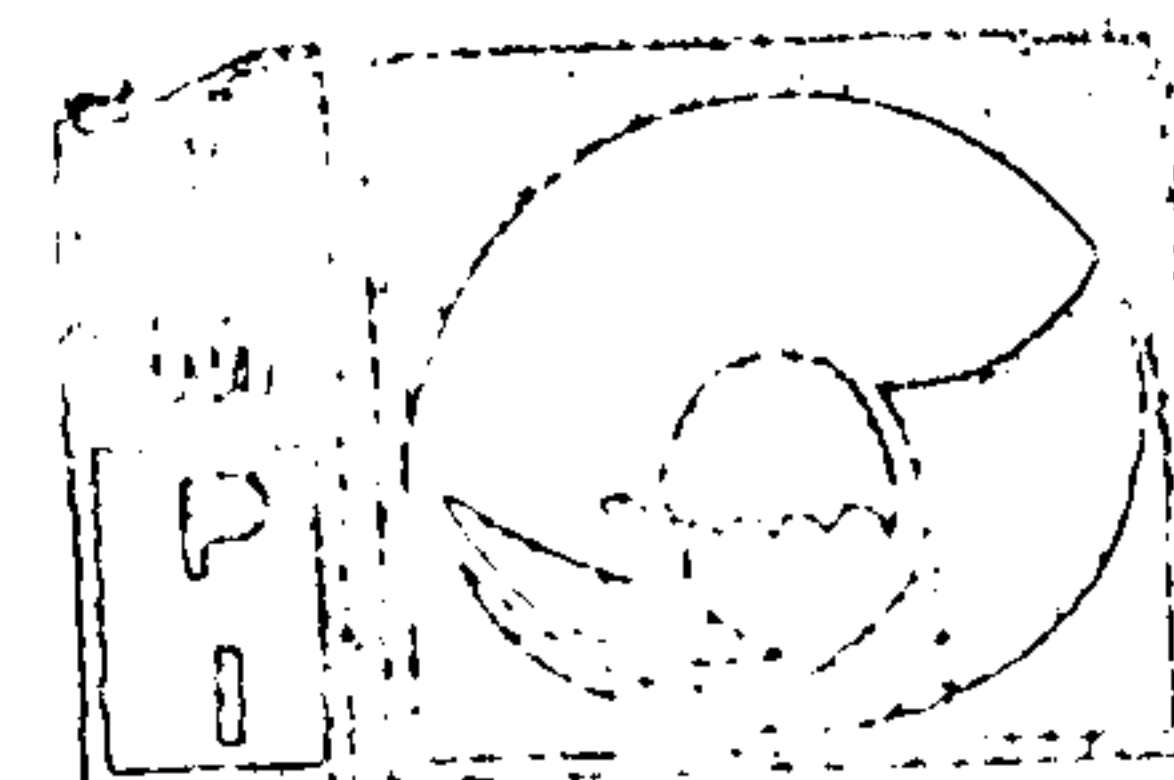


células diana de aproximadamente 2:1. Las células efectoras y diana fueron luego incubadas durante de 18 horas y 24 horas en el incubador de CO<sub>2</sub>, en las mismas condiciones antes mencionadas.

5

Después, en el número de referencia 48, el método MTT para definir la viabilidad de los cultivos celulares, el cual emplea un bromuro amarillo soluble, 3-(4,5-dimetiltiasol-2-il)-2,5-tetrazol (MTT), se utilizó para determinar el número de células de tumor K-562 que fueron muertos en cada pozo. En tal prueba, las células vivas reducen el MTT a cristales intracelulares de color púrpura-azul, insolubles de MTT-formazan (MTT-f). Las células muertas, no viables no pueden reducir el MTT a MTT-f. Así pues, las propiedades ópticas de la solución resultante se pueden evaluar para obtener una indicación del efecto de los diferentes productos que contienen factor de transferencia sobre la habilidad de las células efectoras para matar las células de tumor K-562. Más específicamente, la intensidad de la transformación de MTT en MTT-f muestra el nivel general de actividad deshidrogenasa de las células estudiadas y es modulada por la actividad de los sistemas de fermentación conjugados, por ejemplo, la cadena respiratoria de la transmisión de electrones, etcétera.

25

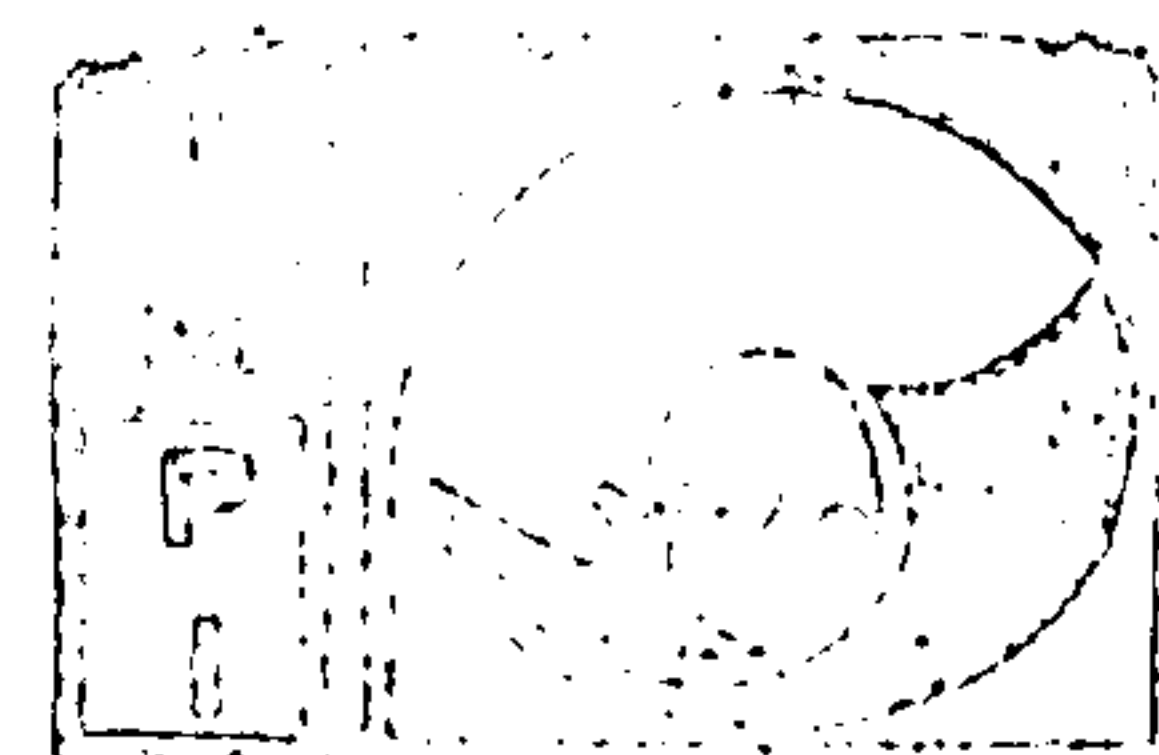


La solución MTT utilizada en este ejemplo se preparó en 5 mg/mL de la solución salina de Henks, como en la técnica. Alícuotas de volúmenes iguales de la solución MTT fueron introducidas en los pozos de las placas de microtitulación, y las placas fueron incubadas en un incubador de CO<sub>2</sub>, y las mismas condiciones antes mencionadas, durante un tiempo de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 horas. Las placas de microtitulación fueron luego centrifugadas a aproximadamente 1500 rpm durante aproximadamente 5 minutos, se retiró el sobrenadante, y alícuotas de 150 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) se introdujeron en los pozos.

Las placas de microtitulación fueron dejadas en reposo a temperatura ambiente durante un tiempo de 30 minutos, para dejar que los cristales de formazan se disolvieran completamente. Después, se utilizó un espectrofotómetro multipozos (LABSYSTEMS MultiScan MSS 340, disponible de Cambridge Scientific Products de Cambridge, Massachussets) para evaluar cada pozo de cada placa de microtitulación a una longitud de onda de 540 nm.

Como se muestra en el número de referencia 50, las mediciones de la densidad óptica (DO) que se obtuvieron





con el espectrofotómetro entonces se utilizaron para calcular el índice citotóxico (%) (IC) (%) de cada pozo. El cálculo del IC (%) se llevó a cabo de acuerdo con la fórmula normal:

$$5 \quad IC(\%) = [I - (O_{e+t} - OD_e) / OD_t] * 100,$$

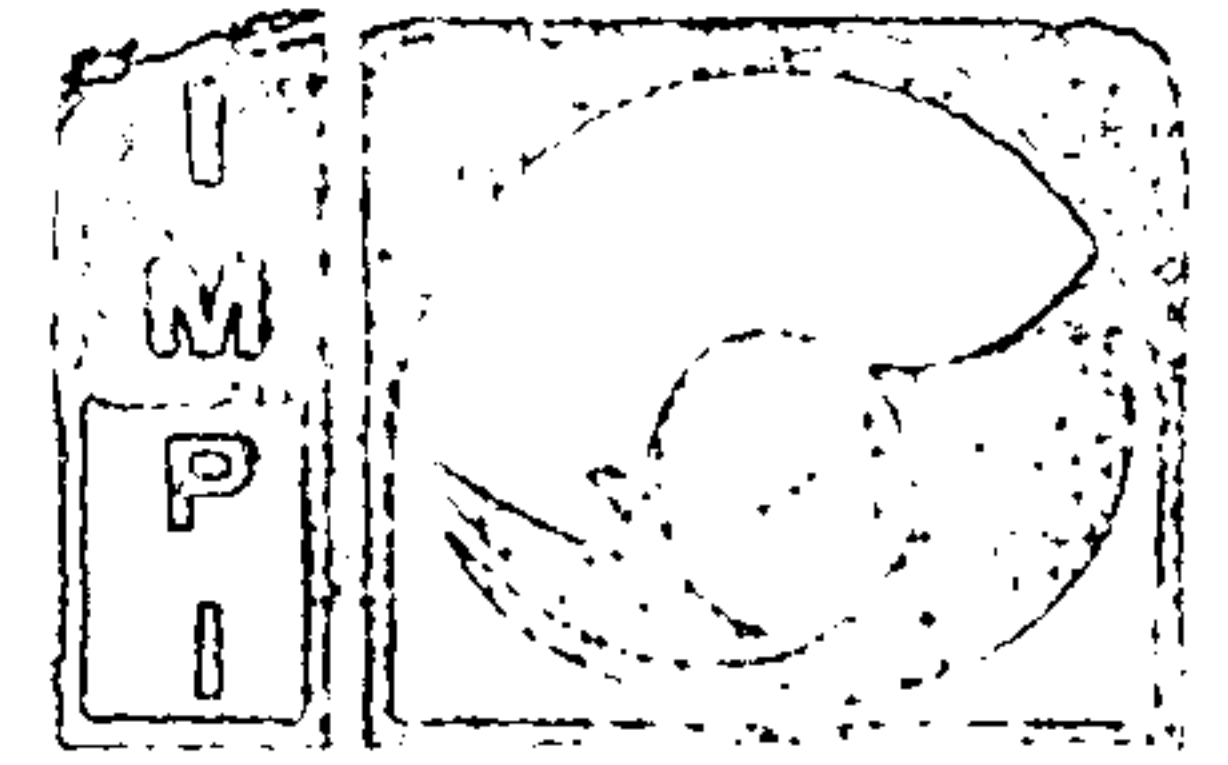
donde  $OD_{e+t}$  es la DO en la serie experimental, OD es la OD en los pozos que solo contienen las células efectoras, y  $OD_t$  es DO de los pozos que solo tiene células diana.

10

TABLA 2

## IC (%) a las 24 horas

Aditivo	1	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
TF (bovino)	35	17	29	18	18	15
TF+ (formulación internacional)	13.5	20.3	35	28.5	10	20.3
TF+ (85:15, calostro: aviario)	13.3	10.6	29	30	21.6	76
TF (70:30, calostro: aviario)	80	47	24	12	30	26.3
TF (aviario)	16	37	47	47	16.1	34.3
ninguno (muerte celular espontánea)						
(± 6%)	18	18	18	18	18	18



Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

TABLA 3

Aditivo	% de la IC (sobre la IC espontánea) a las 24 horas					
	1 mg/mL	10 <sup>-1</sup> mg/mL	10 <sup>-2</sup> mg/mL	10 <sup>-3</sup> mg/mL	10 <sup>-4</sup> mg/mL	10 <sup>-5</sup> mg/mL
TF (bovino)	94	-6	61	0	0	-17
TF+ (formulación internacional)	-25	-41	61	67	20	322
TF+ (85:15, calostro: aviario)	344	161	33	-33	67	46
TF (70:30, calostro: aviario)						
TF (aviario)	-11	106	161	161	-11	91
ninguno (muerte celular espontánea)						
(± 6%)	0	0	0	0	0	0

Tabla 4

Aditivo	IC (%) a las 48 horas					
	1 mg/mL	10 <sup>-1</sup> mg/mL	10 <sup>-2</sup> mg/mL	10 <sup>-3</sup> mg/mL	10 <sup>-4</sup> mg/mL	10 <sup>-5</sup> mg/mL
TF (bovino)	19.3	50	54.7	15.3	40.7	11.3
TF+ (formulación internacional)	23.3	12	17	42	48	62
TF+ (85:15)	48	82.7	96.7	69.4	54	91
TF (70:30)	97	94	99	90	96	91
TF (aviario)	68	49	45	35	58	70
ninguno (muerte celular espontánea)						
(± 6%)	18	18	18	18	18	18



Instituto  
Mexicano  
de Propiedad  
Industrial

**TABLA 5**  
% aumento en la IC (sobre la IC espontánea) a las 48 horas

Aditivo	1	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
TF (bovino)	7	178	204	-15	126	-37
TF+ (formulación internacional)	29	-33	-6	133	167	244
TF+ (85:15, calostro: de huevo)	167	359	437	286	200	406
TF (70:30, calostro: de huevo)	439	422	450	400	433	406
TF (aviario) ninguno (muerte celular espontánea) (± 6%)	278	172	150	94	222	289
	0	0	0	0	0	0

5

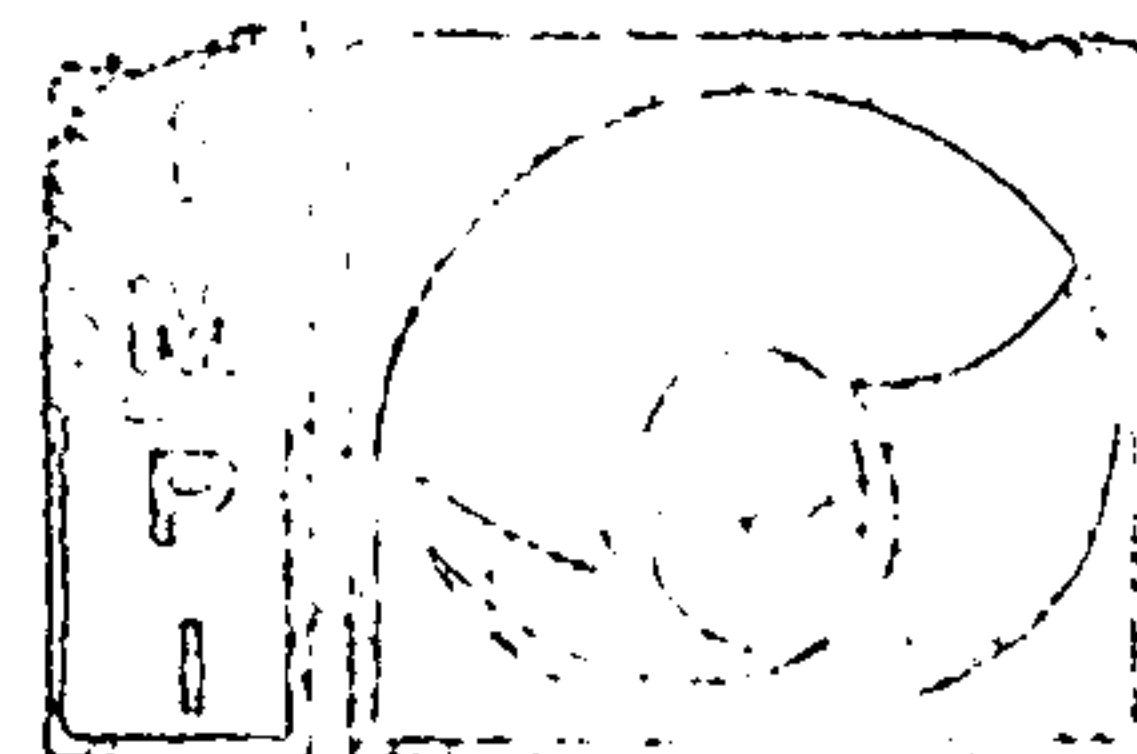
Los datos proporcionados en las Tablas 2 a la 5 confirman que la mayor parte de las muestras de prueba (es decir, las composiciones que contienen de prueba de transferencia) estimular la actividad antitumor y citotóxica aumentada (en relación con la muerte espontánea de las células de tumor) de los linfocitos de donaros sanos contra células de tumor K-562.

El efecto estimulador más grande se observa en los resultados a las 48 horas, con el intervalo más eficaz de



la concentración estimuladora desde aproximadamente 0.1 mg/mL a aproximadamente 0.0001 mg/mL. Las muestras de prueba que incluían factor de transferencia derivado de calostro y factor de transferencia derivado de huevo de nuevo parecen ser la más eficaz en las condiciones dadas del experimento, lisando tanto como el 80-98% de las células de tumor K-562.

Además, los resultados de la tabla 5 indican que combinaciones de diferentes de factor de transferencia, particularmente la proporción 85:15 de TF+ al factor de transferencia derivado de huevo, puede ser más eficaz que otros esquemas de terapia para eliminar las células no deseadas y patógenos del cuerpo de un animal tratado. Más específicamente, hasta donde saben los inventores, en pruebas equivalentes, los mejores resultados que se podían lograr con tratamiento de interleucina 2 habían sido citotoxicidad 276% de células de tumor K-562 con un tiempo de incubación de 24 horas (el cual representa un aumento de 322% sobre las muertes espontáneas de estas células) y un 88% de citotoxicidad de células de tumor K-562 con una incubación de 48 horas (que representa un aumento de 389% sobre las muertes espontáneas de tales células).



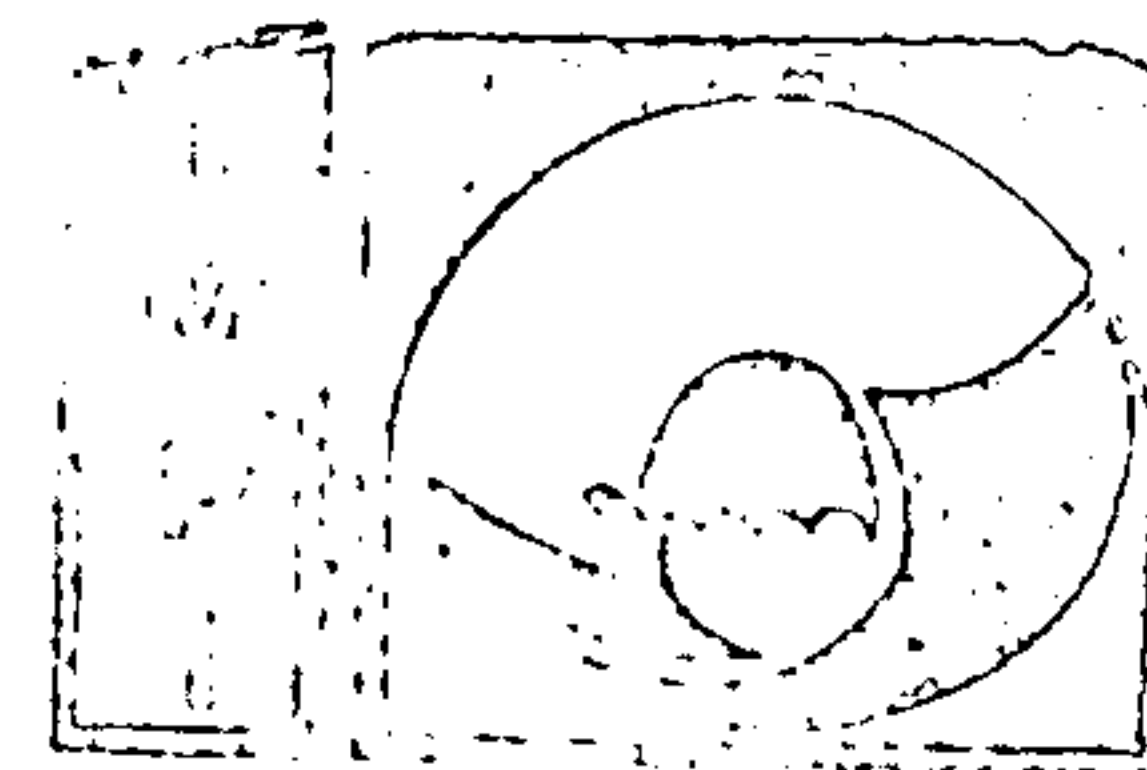
## EJEMPLO 3

Se llevó a cabo otra prueba confirmatoria para comprobar los resultados antes mencionados y evaluar los efectos de una mayor variedad de composiciones de la presente invención para inducir a las células NK y otras mononucleares para matar células de tumor K-562. En las pruebas del Ejemplo 3 se empleó el mismo protocolo descrito en el Ejemplo 3.

Los resultados de los tiempos de incubación de 24 y 48 horas para una variedad de formulaciones de composiciones, cada una conteniendo polvo de huevo y polvo de calostro bovino, se enlistan en las Tablas 6 a la 9.

TABLA 6

Calostro: huevo	IC (%) a las 24 horas				
	1	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
85:15	45	29	67.5	28	50
50:50	67.5	23	66	63.5	22.5
30:70	64.6	68.8	39.1	45.6	44
15:85	55.2	28	20.1	20	18.8
Ninguno (muerte celular espontánea) ( $\pm 6$ )	18	18	18	18	18



Instituto  
Mexicano  
de Tecnología  
Industrial

TABLA 7

% de aumento en la IC (sobre la IC espontánea) a las 24 horas	Calostro: huevo				
	1	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
85:15	150	61	275	56	178
50:50	275	28	267	253	25
30:70	259	282	117	153	144
15:85	207	56	12	11	4
Ninguno (muerte celular espontánea) ( $\pm 6$ )	0	0	0	0	0

TABLA 8

Calostro: huevo	IC (%) a las 48 horas				
	1	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
85:15	46	60	69	67	64
50:50	69	74	74	63	49
30:70	75	83	67	63	45
15:85	77	69	51	42	40
Ninguno (muerte celular espontánea) ( $\pm 6$ )	18	18	18	18	18

5

TABLA 9

% de aumento en la IC (sobre la IC espontánea) a las 48 horas	Calostro: huevo				
	1	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$
	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL
85:15	156	233	283	272	256
50:50	283	311	311	250	172
30:70	317	361	272	250	150
15:85	328	283	183	133	122
Ninguno (muerte celular espontánea) ( $\pm 6$ )	0	0	0	0	0



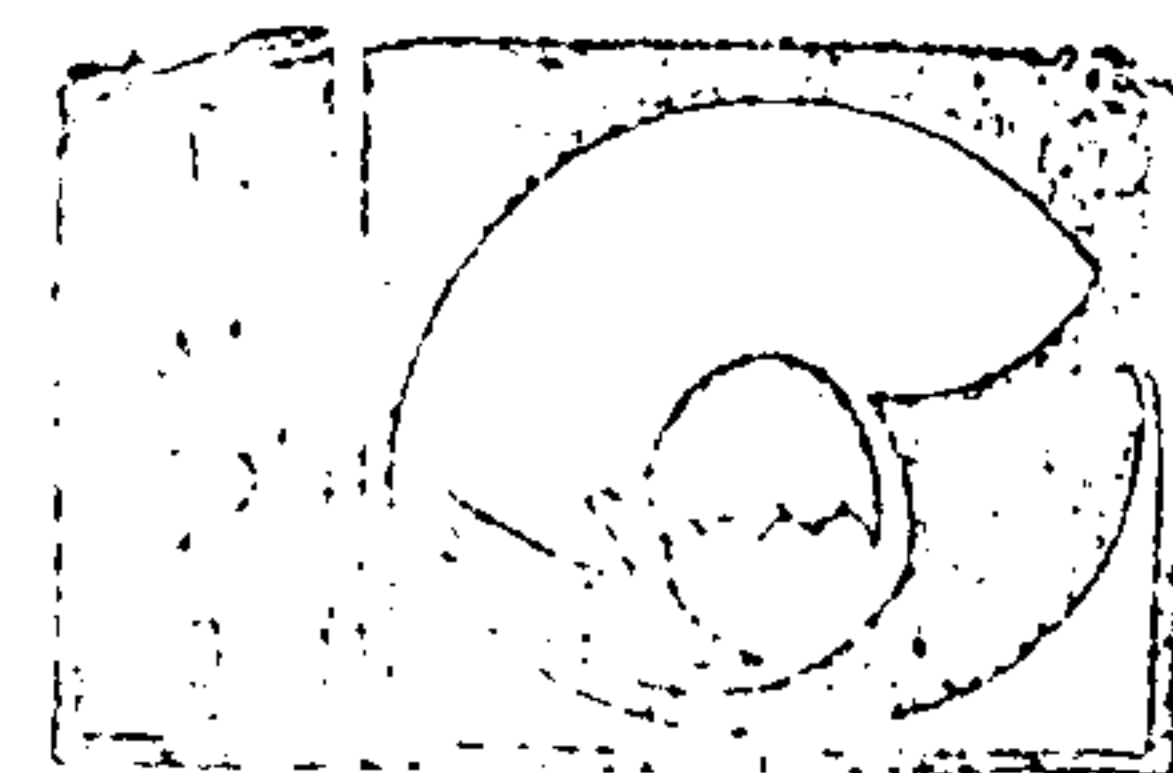


Instituto  
de Huevo  
y Leche, S.A.  
Sociedad  
Industrial

Los datos de las Tablas 6 a la 9, particularmente de las Tablas 6 y 8, muestran que cuando está presente más factor de transferencia obtenido de calostro en una composición de acuerdo con la invención (por ejemplo 5 85:15), la respuesta inicial (prueba de 24 horas) es más grande que la respuesta obtenida por las composiciones que contienen menos factor de transferencia obtenido de calostro, pero no aumenta significativamente con el tiempo (prueba de 48 horas). Estos resultados sugieren 10 que la anergia (es decir, sensibilidad reducida) para el factor de transferencia obtenido de bovino puede ocurrir en una forma relativamente rápida.

Las composiciones (por ejemplo 50:50 y 30:70) que 15 contienen más factor de transferencia obtenido de huevo proporcionan resultados comparables a corto plazo (prueba de 24 horas), pero proporcionan muchos mejores resultados a largo plazo (prueba a las 48 horas).

Estos resultados dan soporte a la teoría que la 20 combinación de diferentes tipos de factores de transferencia proporciona un efecto sinérgico. También indican que las proporciones de los diferentes tipos de factor de transferencia en una composición pueden 25 diseñarse para obtener un resultado deseado.



Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

## EJEMPLO 4

TABLA 10

		IC (%)						Diluciones
		1	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	
		mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	mg/mL	
	TF+ (85:15)							
24	(calostro de huevo)	13.3	10.6	29	30	21.6	7	
horas	TF+ (85:15)							
	(calostro de huevo)	45	29	67.5	28	50		
	TF+ (85:15)							
48	(calostro de huevo)	48	82.7	96.7	69.4	54	9	
horas	TF+ (85:15)							
	(calostro de huevo)	46	60	69	67	64		

5 El Ejemplo 4 compara los datos obtenidos en los  
Ejemplos 2 y 3 anteriores para mostrar que la inclusión  
de otros componentes, principalmente polisacáridos, en el  
TF+ mejora la eficiencia, con la cual una composición que  
incorpora las enseñanzas de la presente invención induce  
10 a las células NK y otras células sanguíneas mononucleares  
para matar células de tumor K-562 y, de este modo  
desencadenar una respuesta inmunitaria secundaria.

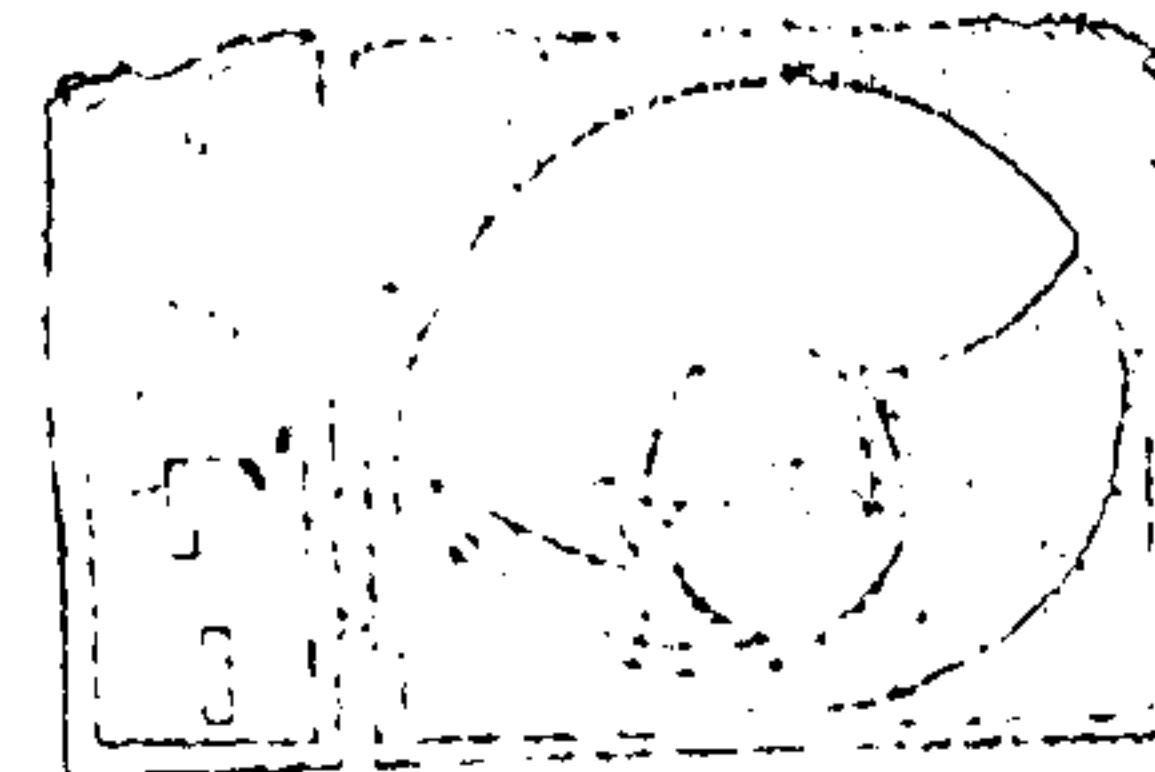
15 Es importante señalar que en la prueba de 48 horas,  
donde se incluyeron polisacáridos, la citotoxicidad fue  
más grande en todas las diluciones por encima de 0.0001  
mg/mL que en las composiciones comparables que carecieron



de polisacáridos. Así pues, se piensa que los polisacáridos aumentan esta sinergia con la que actúan los dos o más tipos de factores de transferencia para obtener sinergia adicional en la generación de una respuesta inmunitaria secundaria.

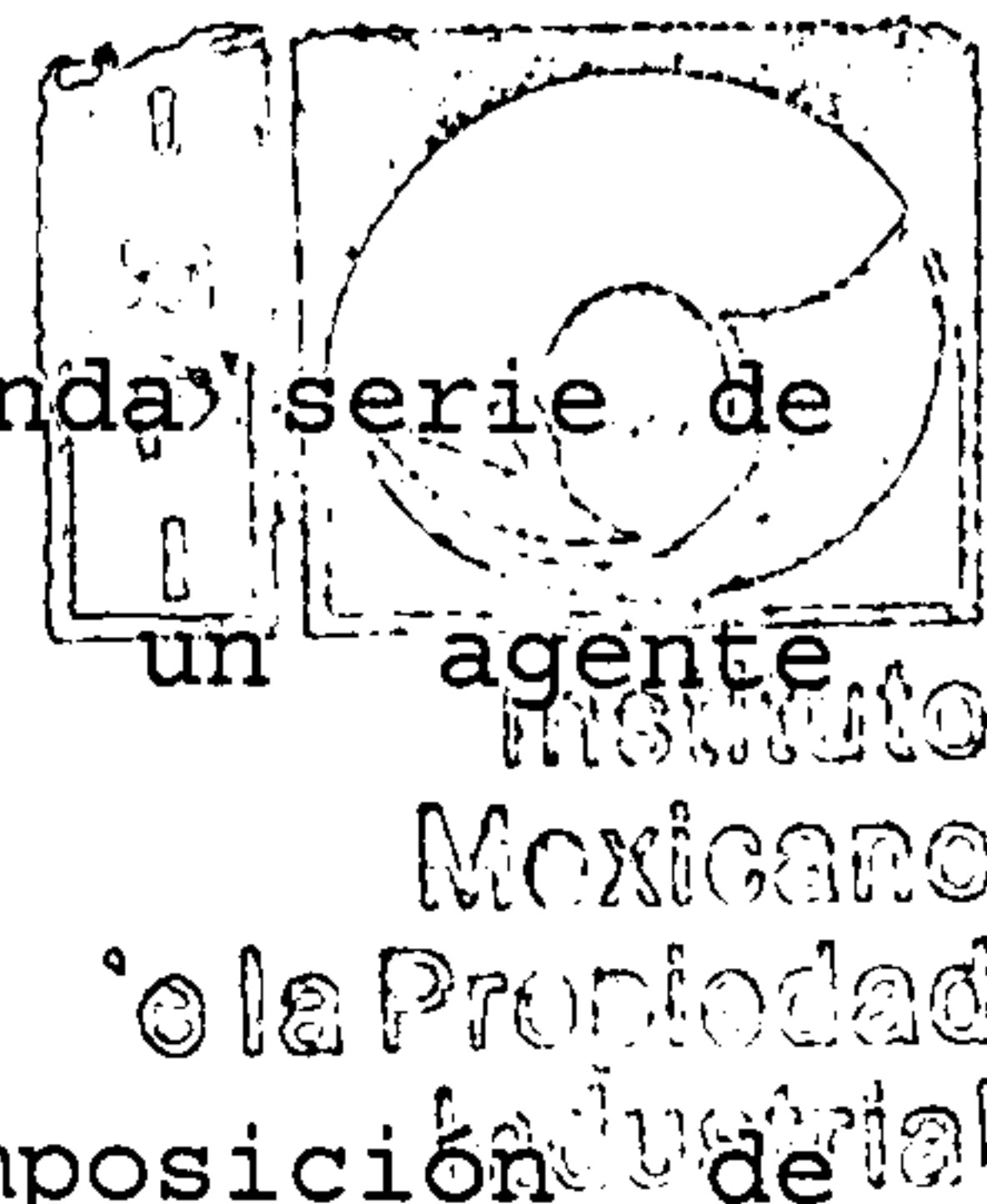
Aunque la descripción antes mencionada contiene múltiples especificaciones, estas no deben ser consideradas como limitadoras del alcance de la presente invención, sino solo como para proporcionar ejemplos de algunas de las modalidades actualmente preferidas. Del mismo modo, otras modalidades pueden ser ideadas sin apartarse del espíritu o alcance de la presente invención. Las características de diferentes modalidades pueden emplearse en combinación. El alcance de la invención, por tanto, está indicado y limitado solo por las reivindicaciones anexas y sus equivalentes legales y no por la descripción antes mencionada. Todas las adiciones, deleciones y modificaciones de la invención como se describen en la presente que entren dentro del significado y alcance de la reivindicaciones están comprendidas por este medio.



REIVINDICACIONES

1. Una composición, que comprende:  
un primer tipo de factor de transferencia de  
producto derivado de calostro bovino; y  
otro, segundo tipo de factor de transferencia  
obtenido de huevo aviario,  
el primer tipo de factor de transferencia  
proporciona una respuesta más inmediata en un animal tratado  
que el segundo tipo de factor de transferencia, un peso  
combinado del primero y segundo tipos de factor de  
transferencia comprende 85%, en peso, del primer tipo de  
factor de transferencia y 15%, en peso, del segundo tipo de  
factor de transferencia.
2. La composición de conformidad con la  
reivindicación 1, que además comprende un polisacárido.
3. La composición de conformidad con las  
reivindicaciones 1 o 2, en donde el primer tipo de factor de  
transferencia se genera por un primer tipo de animal fuente  
en una respuesta inmunitaria mediada por células T a una  
primera serie de agentes antigénicos a los que ha sido  
expuesto el primer tipo de animal fuente y el segundo tipo de  
factor de transferencia se genera por un segundo tipo de  
animal fuente en una respuesta inmunitaria mediada por  
células T a una segunda serie de agentes antigénicos a los  
que se ha expuesto el segundo tipo de animal fuente, la

primera serie de agentes antigénicos y la segunda serie de agentes antigénicos incluyen por lo menos un agente antigénico no común.



4. Un método para formar una composición de conformidad con las reivindicaciones 1 o 2, que comprende combinar el primer tipo de factor de transferencia y el segundo tipo de factor de transferencia.

5. Una composición, que comprende:  
un primer factor de transferencia obtenido de producto derivado de calostro bovino; y

otro, segundo factor de transferencia obtenido de huevo aviario.

6. La composición de conformidad con la reivindicación 5, en donde una relación del primer tipo de factor de transferencia al segundo tipo de factor de transferencia es de por lo menos 85:15.

7. La composición de conformidad con la reivindicación 5, en donde una relación del primer tipo de factor de transferencia al segundo tipo de factor de transferencia es más de 50:50.

8. La composición de conformidad con la reivindicación 5, en donde un peso combinado del primero y del segundo tipos de factor de transferencia comprende 85%, en peso, del primer tipo de factor de transferencia y 15%, en peso, del segundo tipo de factor de transferencia.



9. La composición de conformidad con la reivindicación 5, que incluye cantidades equivalentes, en peso, del primer tipo de factor de transferencia y del segundo tipo de factor de transferencia.

5 10. La composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en donde el primer tipo de factor de transferencia se genera por un primer tipo de animal fuente en una respuesta inmunitaria mediada por células T a una primera serie de agentes antigénicos a los que ha sido  
10 expuesto el primer tipo de animal fuente y el segundo tipo de factor de transferencia se genera por un segundo tipo de animal fuente en una respuesta inmunitaria mediada por células T a una segunda serie de agentes antigénicos a los que se ha expuesto el segundo tipo de animal fuente, la  
15 primera serie de agentes antigénicos y la segunda serie de agentes antigénicos incluyen por lo menos un agente antigénico no común.

11. La composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, que además comprende un  
20 polisacárido.

12. Un método para formar una composición de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, que comprende combinar el producto derivado de calostro mamífero y el producto derivado de huevo aviario.

25 13. Una composición, que comprende:



un primer tipo de factor de transferencia de producto derivado de calostro bovino; y

otro, segundo tipo de factor de transferencia obtenido de huevo aviario,

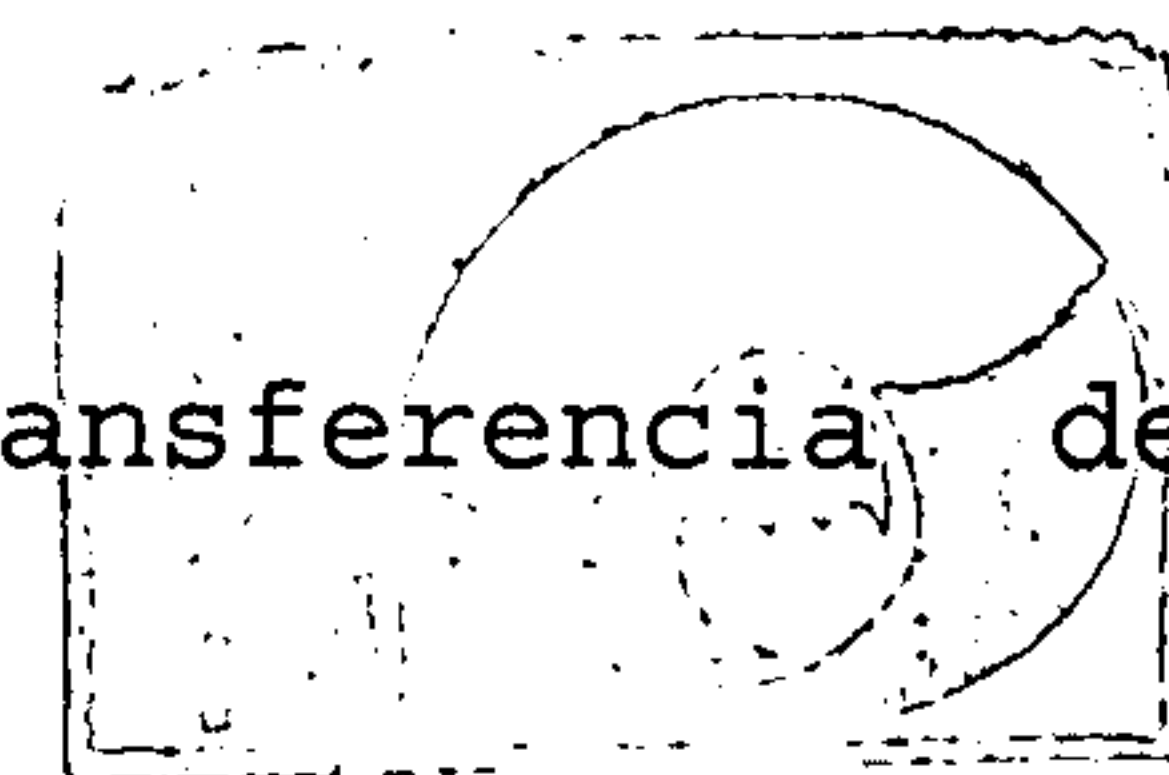
5 el segundo tipo de factor de transferencia proporciona una respuesta inmune más prolongada en un animal tratado que el primer tipo de factor de transferencia, la composición incluye una relación de más de 50:50 del primer tipo de factor de transferencia al segundo tipo de factor de  
10 transferencia.

14. La composición de conformidad con la reivindicación 13, que además comprende:

un polisacárido que incrementa la sinergia con la cual el primero y segundo tipos de factor de transferencia  
15 provocan que el animal tratado genere la respuesta inmunitaria mediada por células T.

15. La composición de conformidad con la reivindicación 13, en donde una relación del primer tipo de factor de transferencia al segundo tipo de factor de  
20 transferencia es de aproximadamente 50:50.

16. La composición de conformidad con la reivindicación 13, en donde una relación del primer tipo de factor de transferencia al segundo tipo de factor de transferencia es de aproximadamente 30:70.



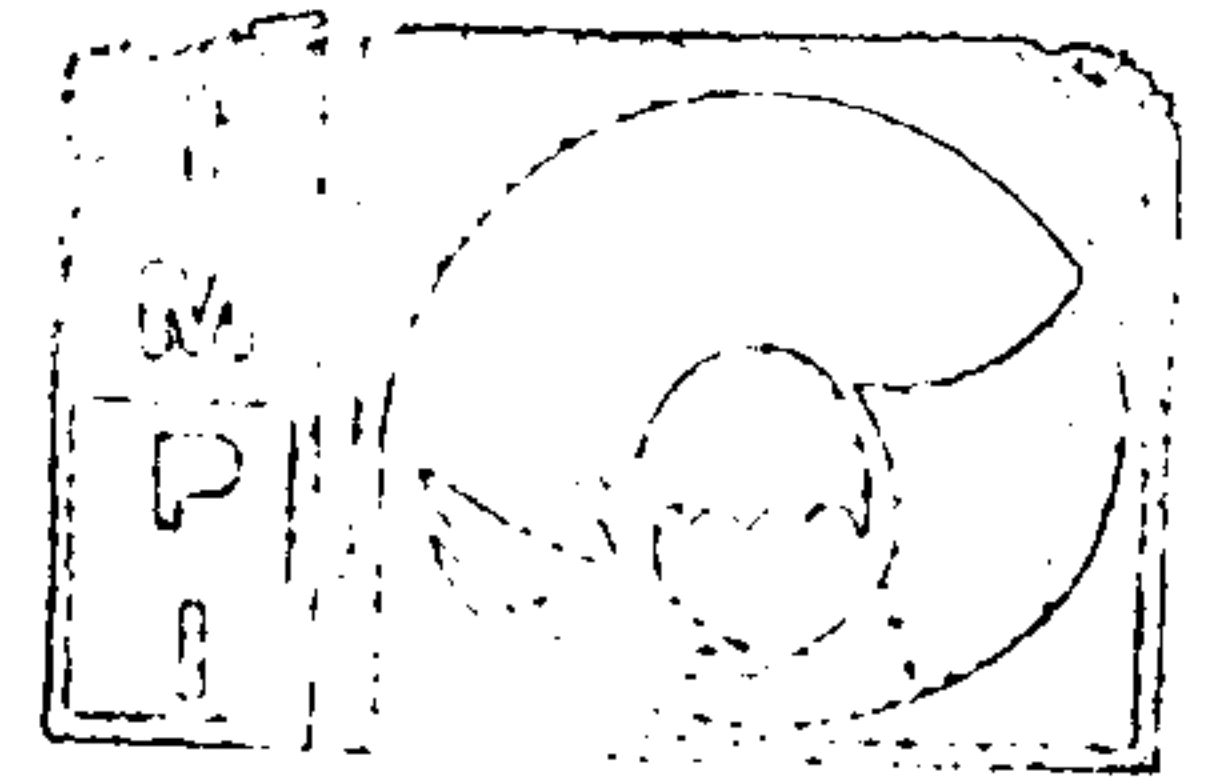
Instituto  
de la Propiedad  
Industrial

RESUMEN DE LA INVENCION

Se describe una composición para producir una  
respuesta inmunitaria mediada por células T en un individuo  
que contiene el factor de transferencia de por lo menos  
5 diferentes tipos de animales. Por ejemplo, la composición  
puede contener el factor de transferencia de mamífero y un  
factor de transferencia no mamífero. Un ejemplo de la  
composición puede ser una combinación de un producto derivado  
de calostro, que incluya el factor de transferencia mamífero,  
10 y un producto derivado de huevo, que incluya el factor de  
transferencia no mamífero. Además, el producto derivado de  
huevo puede estar prácticamente libre de grasa. También se  
describen los métodos para preparar la composición y producir  
respuestas inmunitarias mediadas por células T en individuos  
15 que hayan sido tratados con la composición.

20

25



Instituto  
Mexicano  
de la Propiedad  
Industrial

1/2

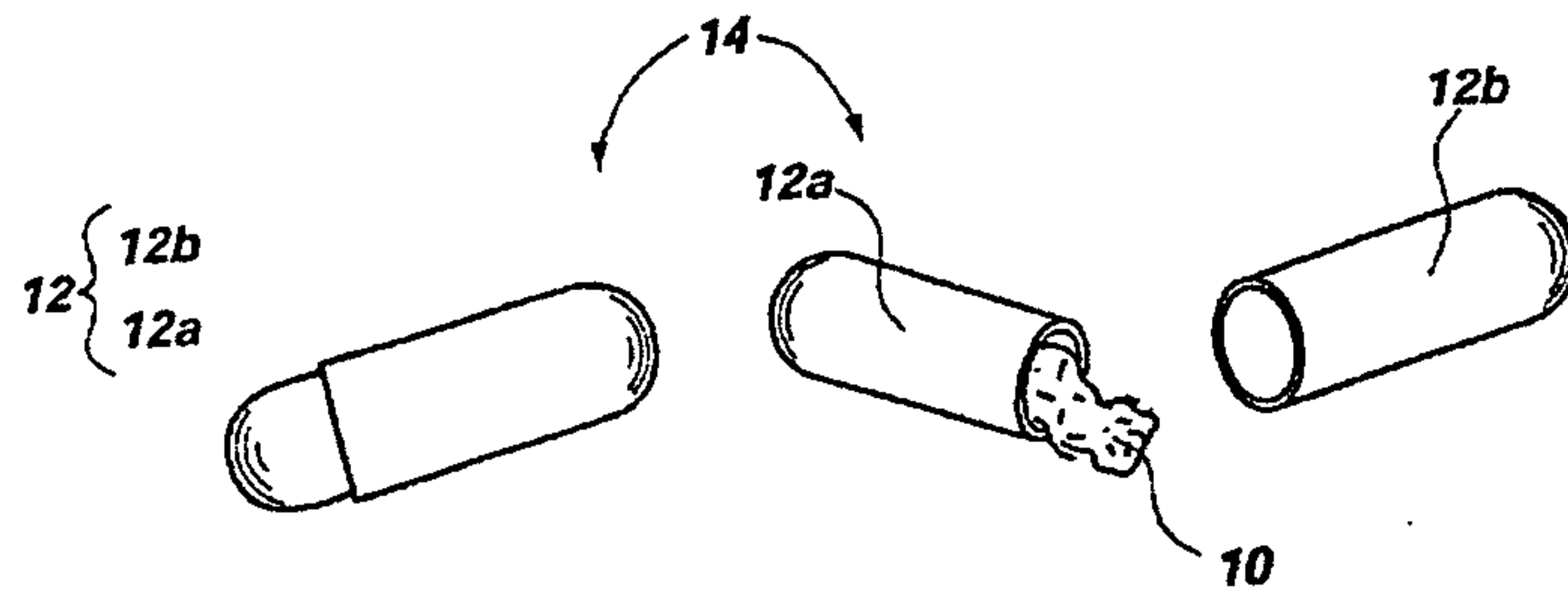


FIG. 1

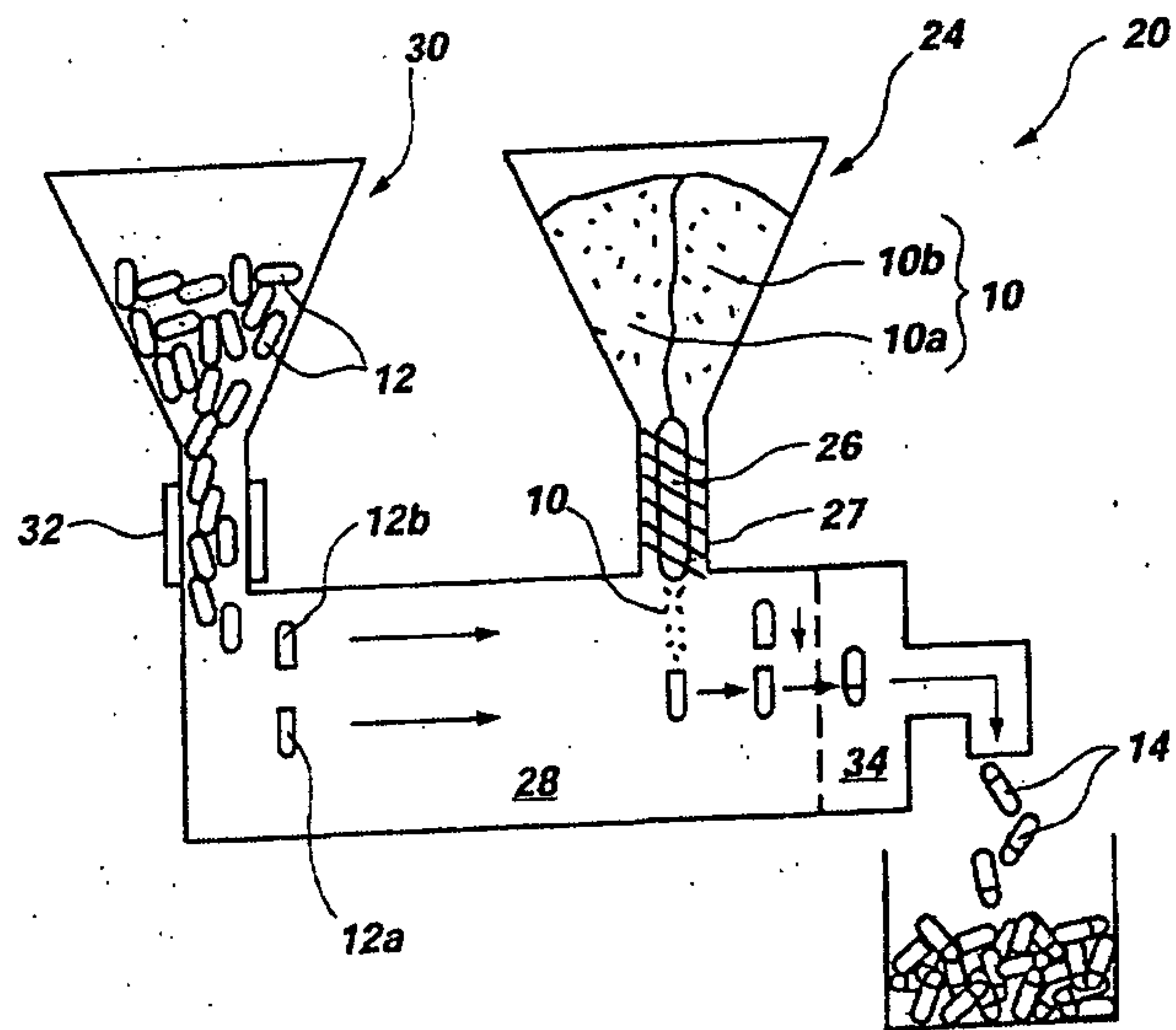


FIG. 2



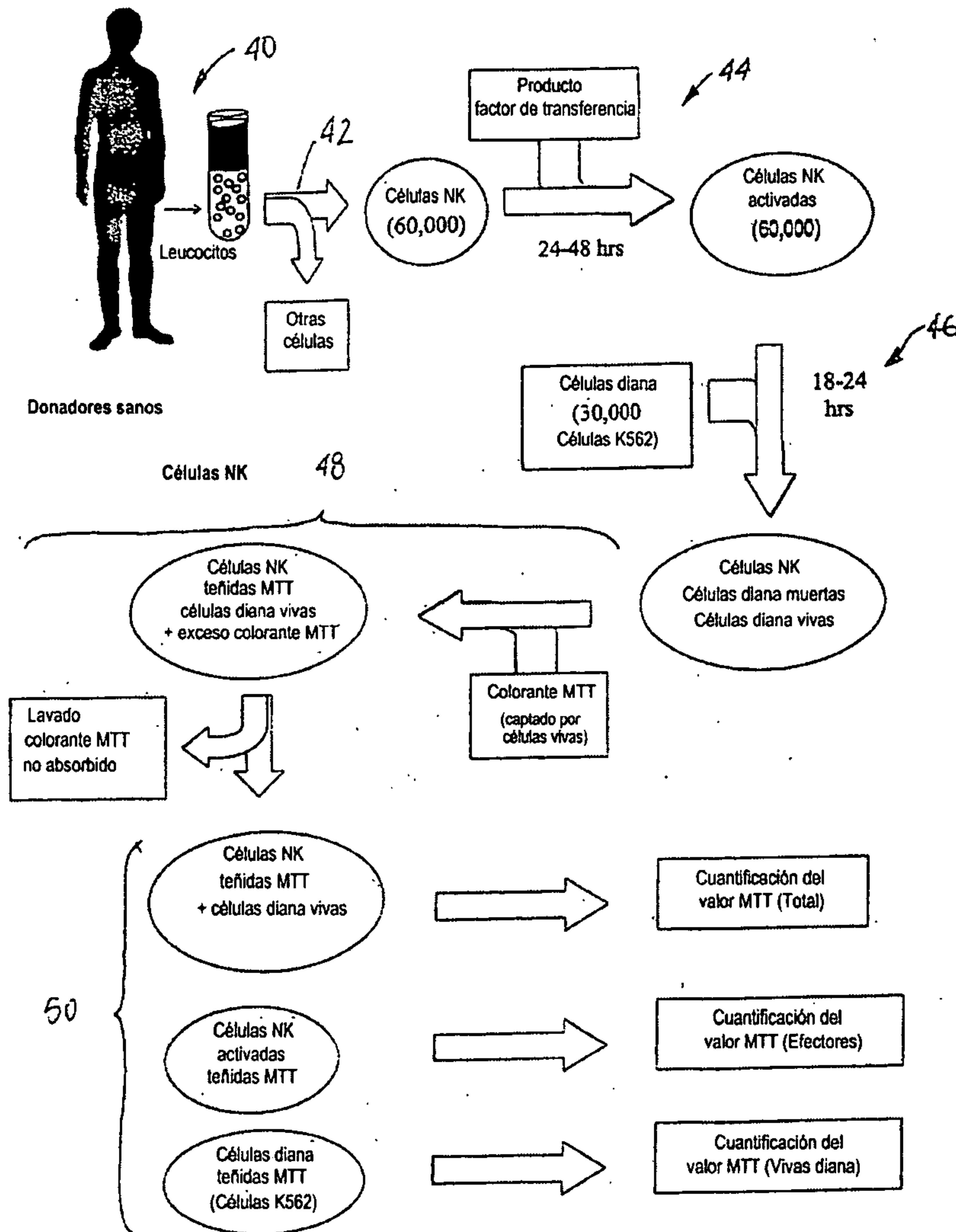


FIGURA 3