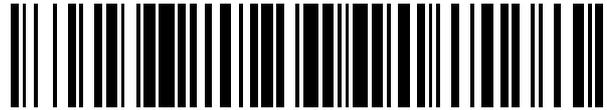


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 658 771**

21 Número de solicitud: 201631183

51 Int. Cl.:

**C12Q 1/68** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**12.09.2016**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**12.03.2018**

71 Solicitantes:

**FUNDACIÓN INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN  
SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ (100.0%)  
Avenida de los Reyes Católicos, 2  
28040 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**ORTIZ ARDÚAN, Alberto;  
SANZ BARTOLOMÉ, Ana Belén;  
SÁNCHEZ NIÑO, María Dolores y  
POVEDA NUÑEZ, Jonay**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

54 Título: **Composición farmacéutica que comprende un vector en el que se ha clonado el gen de Bcl3, uso de la misma y vector**

57 Resumen:

Composición farmacéutica que comprende un vector en el que se ha clonado el gen de Bcl3, uso de la misma y vector. Composición farmacéutica que comprende un vector en el que se ha clonado el gen de Bcl3, donde dicho vector está identificado por la secuencia SEQ ID NO: 1, para su uso en la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento Klotho.

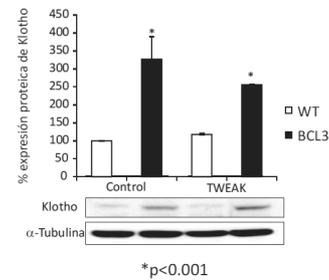


Fig. 3

**DESCRIPCIÓN**

**COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA QUE COMPRENDE UN VECTOR EN EL QUE SE HA CLONADO EL GEN DE Bcl3, USO DE LA MISMA Y VECTOR**

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un compuesto útil para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos. En concreto, dicho compuesto es un vector que aumenta la expresión de Bcl3, evitando el descenso o de la expresión de Klotho, una hormona antienvjecimiento.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

Klotho es una hormona antienvjecimiento que se expresa en los túbulos celulares del riñón. El déficit genético de Klotho en ratones causa envejecimiento acelerado y muerte por enfermedades asociadas a la vejez en la adolescencia. El riñón es el principal órgano que expresa Klotho. El defecto genético específico de Klotho en riñones de ratones y el defecto adquirido de Klotho en la enfermedad renal humana se asocian a envejecimiento acelerado y mortalidad prematura. La inflamación es responsable del descenso adquirido de la expresión renal de Klotho. En concreto, la inflamación sistémica causada por TNF o TWEAK, citoquinas de la superfamilia del TNF, baja la expresión renal de Klotho. En la actualidad no hay ninguna terapia que aumente la expresión de Klotho o evite el descenso de la expresión de Klotho.

20

25

Bcl3 es un regulador de NF-kappaB perteneciente a la familia de I-kappaB. La expresión de Bcl3 aumenta en presencia de TWEAK. Bcl3 se une a NF-kappaB en el núcleo formando complejos de unión con los sitios NF-kappaB de los promotores de los genes diana de NF-kappaB regulando su expresión.

30

En el documento Moreno, J.A., et al., The inflammatory cytokines TWEAK and TNF $\alpha$  reduce renal klotho expression through NF $\kappa$ B. J Am Soc Nephrol, 2011, Vol. 22, N $^{\circ}$  7, páginas 1315-25 se identifican a las citoquinas inflamatorias TNFalfa y TWEAK como responsables de la disminución de Klotho a través de un mecanismo dependiente de NF-kappaB. Como Klotho es una proteína expresada principalmente en el riñón con propiedades antienvjecimiento,

35

los autores muestran la relación entre la inflamación y las enfermedades caracterizadas por un envejecimiento de otros órganos, como la enfermedad renal crónica.

5 La identificación de la inflamación, y, en concreto, de las citoquinas TNF (factor de necrosis tumoral) y TWEAK como las causas de la disminución de Klotho en las enfermedades renales abre las puertas al diseño de nuevas estrategias de tratamiento del envejecimiento.

10 Varios documentos del estado de la técnica describen Bcl3 como un regulador de NF-kappaB a nivel transcripcional y que tiene propiedades antiinflamatorias en células del sistema inmune (Riemann M, Endres R, Liptay S, Pfeffer K, Schmid RM. J Immunol. 2005,175(6):3560-8.) así como en diferentes órganos (Song L, Wörmann S, Ai J, Neuhöfer P, Lesina M, Diakopoulos KN, Ruess D, Treiber M, Witt H, Bassermann F, Halangk W, Steiner JM, Esposito I, Rosendahl J, Schmid RM, Riemann M, Algül H. Gastroenterology 2016, 150(2):499-512.e20). También se han descrito propiedades antiapoptóticas para Bcl3  
15 (Chang TP, Vancurova I. Biochim Biophys Acta. 2014. 1843(11):2620-30).

Pero en el estado de la técnica no se describe que la sobreexpresión de Bcl3 tenga un efecto de prevención y aumento de la expresión de Klotho, ni su uso para prevenir el envejecimiento prematuro debido al déficit de expresión de Klotho.

20

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

25 La presente invención proporciona una composición que comprende un vector que comprende el gen Bcl3 clonado, donde dicho vector está identificado por la SEQ ID NO:1 para su uso en la prevención del envejecimiento prematuro en humanos causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento de Klotho

30 El vector identificado por la secuencia SEQ ID NO:1 comprende el gen Bcl3 clonado. Al haber sido clonado el gen Bcl3, se produce una sobreexpresión de Bcl3, entendiéndose el término sobreexpresión como la producción de un producto génico que excede los niveles de producción normales. Gracias a esta sobreexpresión se evita el descenso de la expresión de la hormona antienvjecimiento de Klotho, previniendo el envejecimiento prematuro en humanos causado por un déficit de expresión de dicha hormona.

35

En otro aspecto, la invención es la composición farmacéutica, que comprende además excipientes farmacéuticamente aceptables.

5 El término “excipientes” hace referencia a compuestos que estabilizan y favorecen la absorción de los principios activos, colorantes, endulzantes, saborizantes, protectores frente al aire y/o humedad, aglutinantes, etc.

10 La composición farmacéutica puede ser formulada con excipientes farmacéuticamente aceptables, así como con cualquier otro tipo de portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables, de acuerdo con técnicas convencionales en la práctica farmacéutica.

La composición farmacéutica puede ser administrada por si sola o en combinación con otros principios activos.

15 La composición farmacéutica puede ser administrada en dosis simples o múltiples.

20 La composición farmacéutica del primer aspecto de la invención puede ser administrada por cualquier vía de administración (por ejemplo, oral, sublingual, perioral, parenteral, intraperitoneal, intramuscular, intranasal, intravenosa, intraarterial, transdérmica, subcutánea, tópica, etc.) para lo cual dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida.

25 La composición farmacéutica puede ser formulada para proporcionar la liberación controlada del ingrediente activo como por ejemplo liberación sostenida o prolongada de acuerdo con métodos que son bien conocidos en la técnica.

Otra realización es el uso la composición descrita anteriormente para la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos causado por un déficit de expresión de la hormona anti envejecimiento Klotho.

30 Otra realización es el vector identificado por la secuencia SEQ ID NO: 1.

La presente invención previene el envejecimiento en los seres humanos mediante el mantenimiento de la expresión normal de Klotho.

35 La presente invención previene el envejecimiento en los pacientes que tienen inflamación sistémica de cualquier causa.

TEXTO LIBRE DE LA LISTA DE SECUENCIAS

5 A continuación, se aporta una traducción del texto libre en inglés que aparece en la lista de secuencias.

cloning site: sitio de clonación

10 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Resultados de la sobreexpresión de Bcl3 que muestran una reducción de muerte celular por apoptosis en las células tubulares expuestas a un ambiente caracterizado por la presencia de citoquinas inflamatorias.

15

Figura 2. Muestra una mayor disminución en la expresión Klotho inducida por TWEAK a 24 horas en las células tubulares renales silenciadas para Bcl3.

20

Figura 3. Resultados de la sobreexpresión de Bcl3. Muestra la prevención de la disminución en la expresión Klotho inducida por TWEAK a 24 horas en las células tubulares renales. Resultados de expresión de proteína Klotho por Western blot.

MODOS DE REALIZACIÓN PREFERENTE

25

Ejemplo 1. Sobreexpresión de Bcl3

Cultivo celular y reactivos

30 Para los estudios in vitro se cultivaron células renales de túbulo proximal de ratón (MCT). Estas células se cultivaron en medio RPMI 1640 (Life Technologies, Grand Island, NY) con 10% de suero bovino fetal inactivado por calor, 2 mM de glutamina, 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomycin en una atmósfera con 5% de dióxido de carbono a 37°C. Para los experimentos, el suero bovino fetal fue retirado 24 horas antes de los estudios y durante todo el experimento.

35

Estudios de expresión de proteínas por Western blot

La membrana fue incubada durante toda la noche a 4°C con el anticuerpo anti-Klotho a una dilución 1:1000. Tras esto, se lavó la membrana y se incubó con un anticuerpo secundario unido a peroxidasa a una dilución 1:2000 (Amersham, Aylesbury, Reino Unido). El siguiente paso fue incubar la membrana con anti-tubulina a una dilución 1:10000 (Sigma, St. Louis, MO) y su correspondiente anticuerpo secundario. Se ha utilizado la tubulina como control de carga de la técnica. Tras esto, las membranas se revelaron con el método de quimioluminiscencia potenciada (ECL) siguiendo las instrucciones del fabricante (Amersham).

10 Transfección de pequeños ARN de interferencia

Las células se cultivaron en placas de seis pocillos (Costar) y se transfectaron con una mezcla de 35 nmol / ml de siRNA de Bcl3 (Santa Cruz Biotechnology, CA), medio sin suplementos Opti-MEM I y reactivo de transfección Lipofectamina RNAiMAX (Invitrogen, Life Technologies, NY). Después de 18 horas las células se lavaron y se cultivaron durante 24 horas en medio completo y durante 24 horas en medio sin suero antes de la estimulación. Un siRNA aleatorio (Ambion Applied Biosystems, Foster City, CA) se utilizó como control. Las células fueron silenciadas para Bcl3 y 48 horas después se estimularon con TWEAK durante 24 horas. Estos siRNAs fueron posteriormente utilizados para la caracterización morfológica de apoptosis. Transfección del gen Bcl3

20 Las células descritas en el apartado "Cultivo celular y reactivos" se cultivaron en placas de seis pocillos (Costar) y se transfectaron con una mezcla de 0,5 µg de un vector identificado por la secuencia SEQ ID NO: 1, este vector es el resultado de clonar

Bcl3 en el vector pCMV6 (Origene, MD), medio sin suplementos Opti-MEM I y reactivo de transfección Lipofectamina 3000 (Invitrogen, NY) siguiendo las instrucciones del fabricante.

25 Al haber sido clonado el gen Bcl3 en el vector pCMV6, se produce una sobreexpresión de Bcl3.

Las células transfectadas se seleccionaron con neomicina. Posteriormente las células fueron tratadas con TWEAK 100 ng/ml (Millipore, MA) durante 24 horas.

30 Muerte celular

La caracterización morfológica de apoptosis se evaluó mediante la fijación de las células con formalina y la tinción de los núcleos con 4', 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) (Sigma Aldrich) para observar los cambios morfológicos típicos. Para la evaluación de la apoptosis por citometría de flujo, las células fueron cultivadas, en medio libre de suero durante 24 horas y después se estimularon durante 24 horas con un cóctel de citoquinas letal (TWEAK 100 ng / ml, TNFα 30 ng /ml y IFN γ 30 UI /ml) durante 24 horas.

Las células adherentes se combinaron con células levantadas de forma espontánea y se incubaron en yoduro de propidio (PI) 100 µg /ml, NP-40 0,05%, RNAsa A 10 µg /ml en PBS a 4 °C durante más de 3 horas. Este ensayo permeabiliza las células, lo que permite a PI teñir tanto las células vivas y muertas. El porcentaje de células apoptóticas con disminución de la tinción de ADN (células hipodiploides) fue contado por citometría de flujo utilizando el software CellQuest BD (BD Biosciences, San Jose, CA).

#### Resultados de la supresión de la expresión de Bcl3 mediante siRNA

10 Bcl3 fue suprimido tal como se ha descrito en el apartado "Transfección de pequeños ARN de interferencia". La supresión de Bcl3 disminuyó la expresión basal de Klotho. Además, se observó una mayor disminución en la expresión Klotho inducida por TWEAK a 24 horas en las células tubulares renales silenciadas para Bcl3 (Figura 2).

#### Resultados de la sobreexpresión de Bcl3

15 Bcl3 fue sobreexpresado tal como se ha descrito en el apartado "Transfección del gen Bcl3". La regulación de Bcl3 no modificó la proliferación o las tasas de apoptosis basales. Sin embargo, en las células que sobreexpresan Bcl3 la respuesta inflamatoria a TWEAK fue más suave. Con el fin de confirmar el papel de Bcl3 en la apoptosis, las células tubulares se expusieron a un cóctel letal de citoquinas TWEAK-TNF-IFN durante 24 horas. El aumento de expresión de Bcl3 protegió a las células de la apoptosis inducida por TNF-TWEAK-IFN (Figura 1).

#### Resultados sobre la prevención de la disminución en la expresión de Klotho inducida por TWEAK en las células tubulares renales.

25 Se cultivaron células tubulares renales según lo descrito en el apartado "Cultivo celular y reactivos". A 24 horas se observa una disminución de proteína Klotho en células tubulares cultivadas en presencia de TWEAK 100 ng/ml (Millipore, MA) y en las células transfectadas con el vector identificado por la secuencia SEQ ID NO: 1 se evita este efecto (Figura 3). Se encontró que los estímulos inflamatorios inducen la expresión de Klotho y por tanto contribuyen a la regulación de la respuesta inflamatoria a los estímulos inflamatorios en las células tubulares.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica caracterizada por que comprende un vector en el que se ha clonado el gen Bcl3, donde dicho vector está identificado por la secuencia SEQ ID NO: 1  
5 para su uso en la prevención del envejecimiento prematuro en humanos causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento Klotho.
  
2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, caracterizada por que comprende además excipientes farmacéuticamente aceptables.  
10
  
3. Uso de una composición según las reivindicaciones 1 a 2 para la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento Klotho.
  
- 15 4. Vector identificado por la secuencia SEQ ID NO: 1.

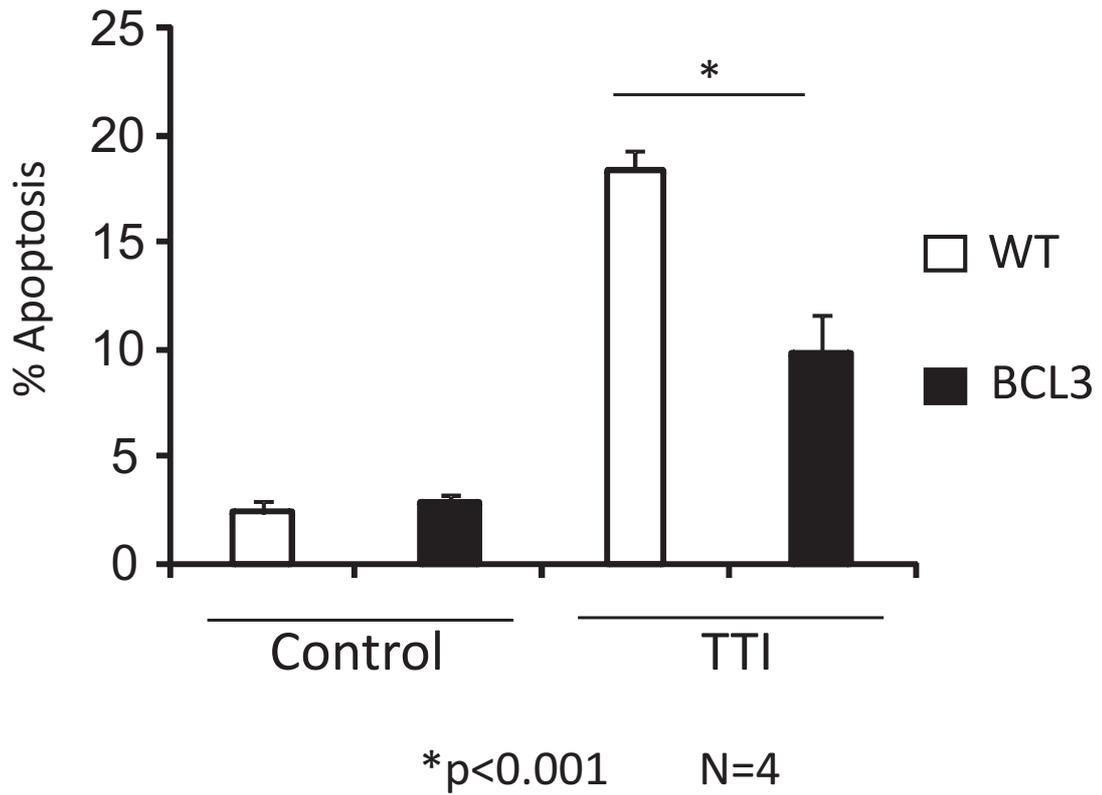


Fig. 1

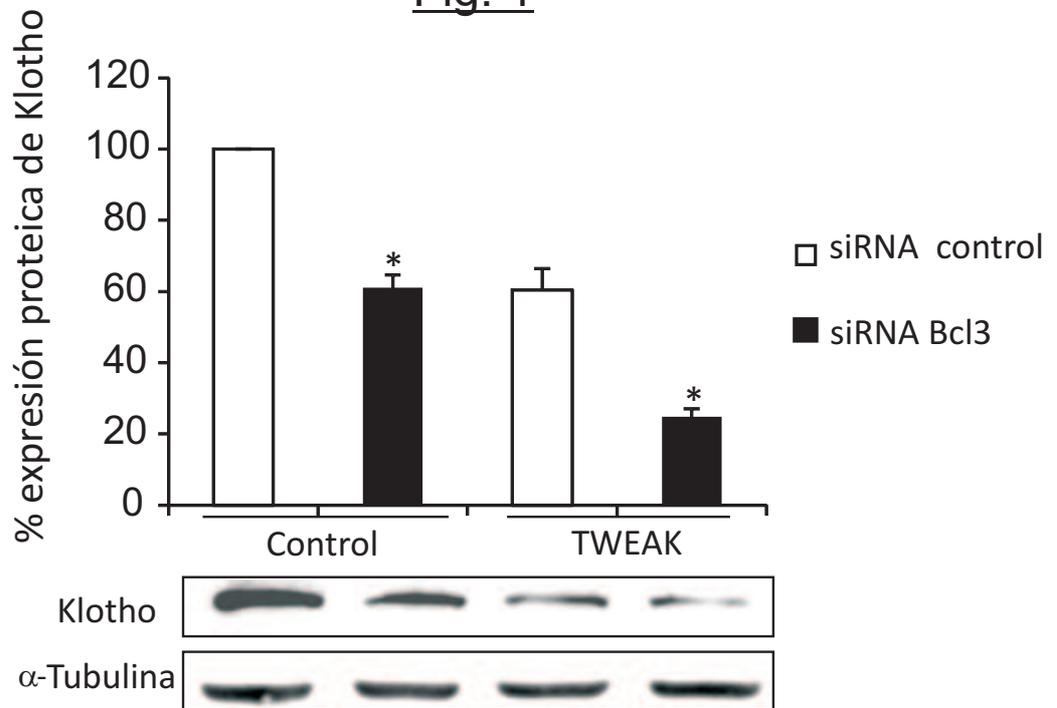
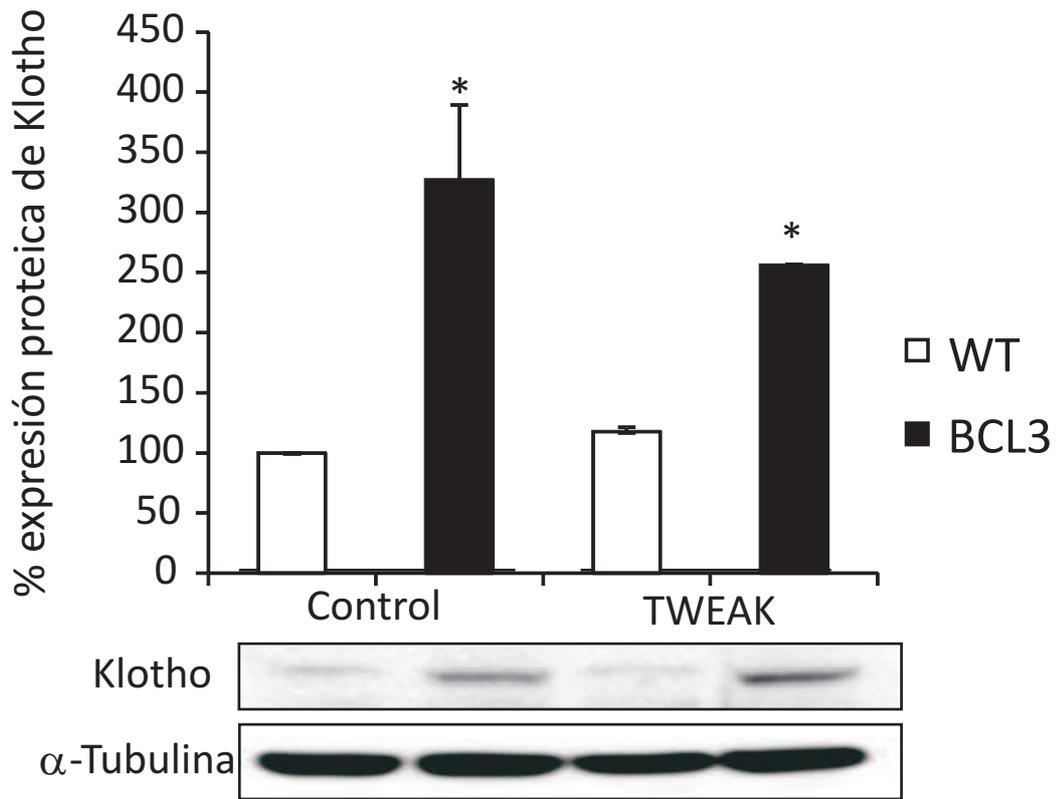


Fig. 2



\* $p < 0.001$

Fig. 3

**LISTADO DE SECUENCIAS**

<110> FUNDACIÓN INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

<120> ELABORACIÓN DE UN MEDICAMENTO PARA PREVENIR EL ENVEJECIMIENTO PREMATURO EN HUMANOS, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA Y USO DE LA SOBREENPRESIÓN DE BCL3

<130> 2016/17010

<160> 1

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 1522

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Vector

<220>

<221> misc\_feature

<222> 74..81

<223> /standard\_name="cloning site\_1"

<220>

<221> gene

<222> 83..1426

<223> /gene="bc13"

<220>

<221> misc\_feature

<222> 1427..1432

<223> /standard\_name="cloning site\_2"

<400> 1

ttttgtaata cgactcacta tagggcggcc gggaattcgt cgactggatc cggtagccgag	60
gagatctgcc gccgcatcg ccatgccccg atgccccgcg ggggcatgg acgaggggcc	120
cgtggacctg cgcaccggc ccaagggcac cccgggcgcc gcgctgccac tccgcaaacg	180
cccgtgctgc cccgctccc cagagcccgc aaccacgcgc agccccgctg gaccctgga	240
cgccctgctg agcggctgct acgtcccggg tgtccctggg cccccccact gtgtggccag	300
gccggaggcc cttactacc agggacctt gatgccatt tactctacc cgacgatggc	360
ccccacttt ccgctgctga acctgcctac tcaccctac tccatgatat gccccatgga	420

ES 2 658 771 A1

acacccccctt tcagctgata ttgccatggc cactcgggtg gatgaggatg gagacacgcc	480
tctccacatc gctgtggtcc agaataacat agccgctgtc taccgaatac tcagcctttt	540
caagcttggg agccgcgaag tagacgtcca taacaacctg cggcagaccc cgctccacct	600
ggctgtcatc accacattac cagacatggt ccggctcttg gtgacagctg gtgccagccc	660
catggccctg gatcgtcacg gccagactgc aattcacctg gcatgcgagc accgcagccc	720
cagctgcctg caggccctgc tggacagcgc aacctcaggc tccgtggacc tggaggttcg	780
caattatgaa gggctcactg ccctgcacgt ggccgtgaac accgggtgcc aggaggctgt	840
tctgctgctc ctggagcgtg gcgcggacat cgatgcagtg gatatcaaga gcggccgctc	900
cccactcatc cacgccgtgg agaacaacag cctgaacatg gtgcaactcc tgctgctgca	960
cggcgccaac gtgaacgctc agatgtattc tggcagctcg gctctgcatt ctgctctgg	1020
ccgcgggctt ctgcctctgg tgcgcacgct ggtgcgcagc ggggctgaca gcggcctcaa	1080
gaactgtcac aatgacacac ctctcatggt ggcgcgcagc cgcagggtca ttgatatctt	1140
aagggggaag gcctctcggg ctgcttcagg gtcacagcct gagccatccc cagaccaaag	1200
tgccaccaac tccccgaga gcagcagtcg tctcagctcc aatggcctcc agtcctcgcc	1260
aagctcctca ccctcgtgt ctccccgaa agatgctct ggcttccccg cgactcccca	1320
aaactttttc cttcccacia catctacacc tgccttctg cccttcccag gagtctctcg	1380
aggccctggc cggcccgtac ccccttcccc agctccagga agcagcacgc gtacgcggcc	1440
gctcgagcag aaactcatct cagaagagga tctggcagca aatgatatcc tggattacaa	1500
ggatgacgac gataaggttt aa	1522



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②<sup>1</sup> N.º solicitud: 201631183

②<sup>2</sup> Fecha de presentación de la solicitud: 12.09.2016

③<sup>2</sup> Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤<sup>1</sup> Int. Cl.: **C12Q1/68** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ <sup>6</sup> Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	Khan K. A. et al. BCL-3-REGULATED TRANSCRIPTION FROM MAJOR IMMEDIATE-EARLY PROMOTER OF HUMAN CYTOMEGALOVIRUS IN MONOCYTE-DERIVED MACROPHAGES. J Immunol, 15/06/2009, Vol. 182, N° 12, Páginas 7784-7794. (Todo el documento)	1, 2, 4
A	Izquierdo M. C. et al. ACUTE KIDNEY INJURY TRANSCRIPTOMICS UNVEILS A RELATIONSHIP BETWEEN INFLAMMATION ANDk AGEING. Nefrología, 2012, Vol. 32, N° 6, Páginas 715-23. (Todo el documento)	1-4
A	US 5883229 A (GUASTELLA) 16/03/1999. (Todo el documento)	1-4

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n°:

Fecha de realización del informe  
01.12.2017

Examinador  
M. Cumbreño Galindo

Página  
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12Q

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, MEDLINE, NPL, EMBASE, BIOSIS, EBI

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 01.12.2017

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 3	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1, 2, 4	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 3	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1, 2, 4	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Khan K. A. et al. J Immunol, Vol. 182, N° 12, Páginas 7784-7794	15.06.2009
D02	Izquierdo M. C. et al. Nefrología, Vol. 32, N° 6, Páginas 715-23	2012
D03	US 5883229 A	16.03.1999

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

D01 investiga la composición del complejo NF- $\kappa$ B en MDMs y fibroblastos infectados con HCMV.

D02 expone que existe una relación entre el fracaso renal agudo, la inflamación y la regulación del envejecimiento, produciéndose un aumento de la expresión renal de Fn14 y la quimiocina transmembrana CXCL16, así como un descenso en la expresión de la hormona Klotho anti envejecimiento secretada por el riñón, todo ello originado por una activación de TWEAK. Además, se origina una activación mediada por NF- $\kappa$ B de las vías de inflamación y la supresión de las vías antiinflamatorias y anti envejecimiento. Tiene lugar una producción de citoquinas inflamatorias, por ejemplo IL-10, las cuales promueven la síntesis de proteínas, como Bcl-3, que pueden reprimir la transcripción de genes inflamatorios.

D03 divulga nuevas moléculas bcl-y, homólogas de la proteína bcl-2, y su uso en la modulación de procesos asociados a la muerte celular programada, como es el envejecimiento. También anticipa los vectores de clonación y los vectores de expresión que contienen las secuencias, como pCI y pRc/CMV.

NOVEDAD (ART. 6.1 LP 11/1986) Y ACTIVIDAD INVENTIVA (ART. 8.1 LP11/1986)

REIVINDICACIONES 1, 2 Y 4

D01 investiga la composición del complejo NF- $\kappa$ B en MDMs y fibroblastos infectados con HCMV, demostrando que Bcl-3 estaba sobreexpresado y se asociaba con p52, lo que indica que los complejos p52 / Bcl-3 son el componente principal del complejo NF- $\kappa$ B en los MDM. Para el estudio se llevó a cabo la construcción del vector de expresión pCMV6-XL4-Bcl-3.

D01 anticipa el objeto de las reivindicaciones 1, 2 y 4 y, por consiguiente, dichas reivindicaciones no son nuevas ni presentan actividad inventiva.

REIVINDICACIÓN 3

Como demuestran los documentos citados, en el estado de la técnica es perfectamente conocido que la activación de TWEAK provoca un descenso en la expresión de la hormona Klotho anti envejecimiento secretada por el riñón a través de un mecanismo dependiente de NF- $\kappa$ B, y que Bcl3 es un regulador de NF- $\kappa$ B. Así mismo, la expresión de otras moléculas con significado clínico en linfoma, como bcl-2, que juegan un papel en el control de la apoptosis o muerte celular programada, se ha modulado con el fin de tratar aquellos procesos que tienen que ver con el envejecimiento. Sin embargo, en la búsqueda que se ha realizado no se ha encontrado el uso de bcl-3 para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos causado por un déficit de expresión de la hormona anti envejecimiento Klotho. Así pues, la reivindicación 3 se considera que sería nueva y tendría actividad inventiva.