

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 684 696**

51 Int. Cl.:

C07K 16/04	(2006.01)
C07K 16/12	(2006.01)
A61K 39/395	(2006.01)
A61K 35/20	(2006.01)
G01N 33/68	(2006.01)
C07K 16/26	(2006.01)
A61K 39/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2010 PCT/IL2010/000339**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **04.11.2010 WO10125565**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2010 E 10721856 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2424890**

54 Título: **Preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de esteatohepatitis no alcohólica**

30 Prioridad:

27.04.2009 US 172922 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.10.2018

73 Titular/es:

**IMMURON LIMITED (100.0%)
Level 1 39 Leveson Street
North Melbourne, Victoria 3051, AU**

72 Inventor/es:

**ILAN, YARON;
LALAZAR, GADI;
ADAR, TOMER;
MIZRAHI, MEIR y
BEN-YA'ACOV, AMI**

74 Agente/Representante:

CAMPello ESTEBARANZ, Reyes

ES 2 684 696 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de esteatohepatitis no alcohólica

5

Antecedentes de la invención

La hepatitis crónica es una inflamación del hígado que dura al menos seis meses. La hepatitis crónica, aunque es mucho menos común que la hepatitis aguda, puede persistir durante años, incluso décadas. En la mayoría de las personas, es bastante leve y no causa un daño hepático significativo. Sin embargo, en algunas personas, la inflamación continuada daña lentamente el hígado, finalmente dando lugar a cirrosis (cicatrización severa del hígado), insuficiencia hepática y, a veces, cáncer de hígado. La hepatitis crónica normalmente es causada por el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC) y fármacos.

La infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) se caracteriza por la incapacidad del huésped para establecer una respuesta inmune eficaz. Al mismo tiempo, la infección crónica por VHC se asocia con niveles anormalmente altos y persistentes de activación inmune. Esta activación contribuye al daño hepático y a la progresión de la enfermedad. Los pacientes con infección crónica por VHC tienen cursos clínicos muy variados, mientras que algunos desarrollan cirrosis, otros no muestran progresión de la enfermedad hepática.

20

Varios factores de riesgo, incluyendo el consumo concomitante de etanol, se han asociado con daño hepático acelerado y progresión a cirrosis. Se ha encontrado que los pacientes tanto con VHC crónica como con consumo crónico etanol tienen una progresión acelerada de la enfermedad hepática. Esto se ha asociado con mayores niveles de LPS [Bedogni, G. Am. J. Gastroenterol. 103(9): 2248-53 (2008)]. De forma interesante, un estudio reciente ha demostrado que la proteína no estructural del VHC NS5A activa el receptor tipo Toll (TLR) 4 que también se activa mediante LPS [Machida, K. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106(5):1548-53 (2009)].

25

Los LPS no solo pueden estar relacionados con el avance de la enfermedad hepática, sino también con la perpetuación de la infección crónica. En comparación con pacientes con infección autolimitada, los monocitos de los pacientes con VHC crónica producen significativamente más IL-10 y TNF alfa en respuesta a la proteína central del VHC o a LPS [Martin-Blondel, G. et al. J. Viral. Hepatitis (March 11, 2009)]. Por lo tanto, aunque la translocación de los productos microbianos del intestino, la activación inmune y la progresión de la enfermedad hepática parecen estar estrechamente relacionadas, falta una prueba de la causalidad. Además, parece haber una conexión entre los niveles de LPS y la depuración viral, aunque esto debe aclararse. Por lo tanto, se necesitan estudios diseñados para aclarar estas relaciones. Si la translocación microbiana está impulsando la activación inmune y la progresión de la enfermedad hepática, las estrategias que reduzcan o eviten la translocación microbiana pueden, por lo tanto, tener un impacto significativo en la activación inmune y, por lo tanto, en la historia natural de la infección crónica por VHC.

30

35

La peritonitis bacteriana espontánea (SBP) es una complicación común y grave de enfermedades hepáticas crónicas, tales como cirrosis hepática, hipertensión portal y ascitis. La SBP ocurre en hasta el 30 % de los pacientes y se asocia con una tasa de mortalidad intrahospitalaria de hasta el 25 %. La translocación bacteriana al líquido peritoneal estancado e inmunodebilitado se considera el principal mecanismo patogénico de la SBP. Si bien la paracentesis y la terapia antibiótica de amplio espectro constituyen un tratamiento eficaz para la infección aguda, muchos pacientes padecen episodios recurrentes de SBP con patógenos que se vuelven cada vez más resistentes a la terapia con antibióticos [Song, K.H. et al. BMC Infect Dis. 9(1): 41 (2009)]. Los métodos para la profilaxis de la SBP usando antibióticos crónicos son controvertidos y están asociados con la emergencia de especies resistentes a los antibióticos [Cohen, M.J. et al. Cochrane Database Syst Rev. 2: CDO04791 (2009)].

45

Recientemente, se ha encontrado una asociación creciente entre la translocación bacteriana y la incidencia de complicaciones de la cirrosis. Los niveles de cualquiera de los productos bacterianos (ARN ribosomal 16s) en el suero o endotoxemia (LPS o LBP) se han correlacionado con sangrado varicoso, síndrome hepatorenal y el estado circulatorio hiperdinámico encontrado en pacientes cirróticos [El-Naggar, M.M. 'et al. J. Med. Microbiol. 57(Pt 12):1533-8 (2008)].

50

Durante décadas, se han realizado diversos intentos para obtener una mayor secreción de anticuerpos específicos de inmunógeno a través de la glándula mamaria de animales de granja. Dichos intentos están dirigidos a la producción de grandes cantidades de anticuerpos específicos de inmunógeno a través de la leche. Los niveles de anticuerpos en la leche madura, sin embargo, siguen siendo bajos (aproximadamente un orden de magnitud) en comparación con los que se pueden lograr en el calostro.

55

El calostro (también conocido como primera leche) es una forma de leche producida por las glándulas mamarias al final del embarazo y pocos días después del nacimiento. En los seres humanos tiene altas concentraciones de nutrientes y anticuerpos, pero su cantidad es pequeña. El calostro es rico en carbohidratos, proteínas, sales minerales, vitaminas e inmunoglobulinas. También contiene diversas células flotantes tales como células granulares y estromales, neutrófilos, monocitos/macrófagos y linfocitos e incluye factores de crecimiento, hormonas y citocinas.

Los leucocitos también están presentes en el calostro en grandes cantidades que permiten la protección contra virus y bacterias. Los leucocitos del calostro mejoran la inmunidad pasiva del ternero recién nacido, especialmente en lo que respecta a los anticuerpos y las clases de inmunoglobulinas que son esenciales para la inmunidad intestinal.

La gran cantidad de anticuerpos secretores que se encuentran en el calostro ayuda a proteger las membranas mucosas de la garganta, los pulmones y los intestinos del recién nacido. El calostro bovino (BC) contiene tres clases principales de inmunoglobulinas: IgG, IgM e IgA.

Como se indicó anteriormente, el calostro es un producto bastante único que surge de un estado fisiológico y funcional distinto de la glándula mamaria. En los ruminantes, la principal diferencia de composición entre el calostro y la leche madura es el contenido muy alto de componentes bioactivos como lactoferrina e inmunoglobulinas [Tarbell, K.V. et al. J. Exp. Med. 199:1467-77 (2004); Bluestone, J.A. and Tang, Q. J. Autoimmun 24:55-62 (2005); Putnam, A.I. et al J.Autoimmun. 24:55-62 (2005)], de los cuales la clase IgG constituye el 80-90 %.

La inmunización de un animal tal como una vaca con antígenos específicos permite la producción y recolección de anticuerpos específicos que pueden usarse para la modulación de una respuesta inmune y, de ese modo, en el tratamiento de trastornos relacionados con el sistema inmune. Por consiguiente, este método sirve como un medio fácil y seguro para generar anticuerpos específicos de antígeno y adyuvantes inmunes.

Varias patentes anteriores y solicitudes de patente de algunos de los presentes inventores, describieron el uso de anticuerpos patógenos bacterianos específicos, obtenidos de calostro bovino para el tratamiento pasivo de enfermedades infecciosas. Por ejemplo, el documento WO 04/078209 de algunos de los presentes inventores, describe compuestos y composiciones para el tratamiento o profilaxis de trastornos gastrointestinales preparados inmunizando un animal huésped con una vacuna que comprende uno o más antígenos de pared celular de bacterias entéricas, específicamente, bacterias gram negativas. El material hiperinmune producido está en forma de comprimidos para administración oral. El documento WO 03/097094 describe el uso de un calostro hiperinmune en la producción de anticuerpos (IgG completa) o fragmentos de anticuerpos F(ab')₂, conjugados con calostro de mamífero y extractos de calostro, para administración intranasal dirigida a la prevención de síntomas que surgen de la presencia de bacterias patógenas en el aire.

La tolerancia a la mucosa se considera un enfoque atractivo para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias debido a la falta de toxicidad, la facilidad de administración y el mecanismo de acción específico de antígeno [Wershil, B.K. y Furuta, G.T. J. Allergy Clin. Immunol. 121:S380-3; quiz S415 (2008); Faria, A.M. y Weiner, H.L. Clin. Dev. Immunol. 13:143-57 (2006)]. Por lo tanto, se hicieron intentos importantes para generar productos estables derivados de calostro adecuados para administración oral y nasal. Por ejemplo, el documento WO 95/08562 de algunos de los inventores, describe el método de obtención de inmunoglobulinas de alta pureza a partir de calostro rico en anticuerpos y la posibilidad de comprimir estos anticuerpos calostrales en una forma de comprimido sin pérdida sustancial de actividad. Se pueden obtener anticuerpos específicos por inmunización de un mamífero con antígenos específicos contra bacterias enterotóxicas tales como E. coli, Salmonela y Shigella. El documento WO 06/053383 de algunos de los inventores, describe un ácido carboxílico y restos alcalinizantes que confieren a una composición de agente bioactivo de un calostro hiperinmune, lactoferrina o lactoferracina, estabilidad bajo una amplia diversidad de valores de pH gástrico. Finalmente, el documento WO 03/080082 de algunos de los inventores, describe un método para mejorar la viabilidad de una sustancia bioactiva lábil, preferiblemente inmunoglobulinas o fragmentos de las mismas o enzimas, en un entorno gástrico, que comprende formar una mezcla de la sustancia bioactiva y calostro de mamífero y extractos de calostro. Esta conjugación protege los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos de la proteólisis ocasionada por enzimas o condiciones de pH bajo y preserva su función en el estómago o el rumen u otro entorno hostil.

La mucosa intestinal es el órgano linfoide más grande del cuerpo. Se trata del doble rol de la absorción de nutrientes, mientras se mantiene una barrera física e inmunológica para el contenido intestinal. A pesar de la constante estimulación antigénica, la supresión de la inflamación es la regla. Dos conceptos clave se refieren al tratamiento de la enfermedad viral y sus complicaciones con los calostros: translocación microbiana de la mucosa y

una mejor regulación inmune mediante la alimentación oral de antígenos de la enfermedad, denominada "tolerancia oral".

Aumento de la translocación microbiana de la mucosa: este es un concepto de inmersión en la patogénesis de la enfermedad. Los niveles más altos de translocación microbiana, cuantificados por la presencia de LPS y ADN bacteriano son fundamentales para un estado de activación inmune crónica que representa el agotamiento inmune y el daño autoinmune.

La estimulación a través de la mucosa intestinal tiende a provocar una respuesta inmune tolerogénica. Esta característica se puede usar ventajosamente para inducir tolerancia hacia autoantígenos y de esta manera suprimir la autoinmunidad. De hecho, se ha demostrado que la "tolerancia oral" disminuye eficazmente la respuesta inmune frente a antígenos alimentados por vía oral en diferentes modelos de enfermedad [Safadi, R. et al. Am. J. Gastroenterol. 98(11): 2505-15 (2003)].

Se ha demostrado previamente que las preparaciones de calostro derivadas de bovino se pueden usar en el tratamiento de afecciones intestinales mediadas por toxinas. En un estudio de 10 voluntarios expuestos por vía oral a un concentrado de *E. coli* enterotoxigénico, la administración de un concentrado de anticuerpos bovinos obtenido inmunizando vacas con las correspondientes cepas de *E. coli* evitó el desarrollo de diarrea en los 10 participantes que recibieron el producto; por el contrario, 9/10 controles desarrollaron diarrea [Tacket, C.O. et al. N. Engl. J. Med. 318(19): 1240-3 (1988)]. En otro estudio, la administración de anticuerpos derivados de la leche contra el factor de colonización enterotoxigénica de *E. coli* protegió a 14/15 sujetos de la diarrea, en comparación con 7/10 sujetos que recibieron placebo [Freedman, D.J. et al. J. Infect. Dis. 177(3): 662-7 (1998)].

Otra enfermedad con una patogénesis similar es la colitis pseudomembranosa. Un estudio evaluó el efecto de la proteína de suero de leche inmune, obtenida inmunizando vacas con toxinas inactivadas de *C. difficile* y *C. difficile* muerta por células enteras se mostró como la prevención de la recaída de la enfermedad de *C. difficile*. Dieciséis pacientes recibieron el producto después del tratamiento estándar para un episodio confirmado de colitis por *C. difficile* durante dos semanas. En todos los casos excepto uno, la toxina *C. difficile* desapareció de las heces y no hubo recidivas después de una media de seguimiento de 333 días [van Dissel, J.T. et al. J. Med. Microbiol. 54(2): 197-205 (2005)].

Colectivamente, estas observaciones sugieren que las preparaciones de calostro derivadas de bovino proporcionan concentraciones biológicamente activas de anticuerpos específicos contra la luz intestinal cuando se toman por vía oral, y pueden ser capaces de bloquear diversas formas de toxinas bacterianas en el intestino mediante ese mecanismo.

Czaja MJ, et al., divulga en HEPATOLOGY (vol. 19, n.º 5, mayo de 1994, páginas 1282-1289) que un anticuerpo neutralizante de lipopolisacáridos reduce la lesión de hepatocitos por la administración de hepatotoxina aguda.

El documento EP1795204A1 divulga una composición funcional o alimento que contiene proteína de suero o anticuerpo derivado de leche.

Maier. Praxis 94 (48): 1907-1912(2005) divulga el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica mediante la reducción del peso y el tratamiento de la diabetes a menudo subyacente. Dado que la translocación microbiana está impulsando la activación inmune y la progresión de la enfermedad hepática, las estrategias que reduzcan o eviten la translocación microbiana pueden tener un impacto significativo en la activación inmune y, por lo tanto, en la historia natural de la infección crónica por VHC. La presente invención demuestra ahora el uso de preparaciones en polvo de calostro bovino (BPC) de vacas inmunizadas, que contienen altos niveles de anticuerpos, como inmunomoduladores capaces de reducir la activación inmune en respuesta a productos microbianos tales como LPS. Sin desear quedar ligados a teoría alguna, los inventores plantean la hipótesis de que la unión de los anticuerpos BPC a los antígenos microbianos puede evitar su translocación en el torrente sanguíneo, restringiendo de este modo la respuesta inmune. Estos efectos sobre el sistema inmune permiten el uso de dichas preparaciones de calostro para el tratamiento de enfermedades infecciosas, que involucran al sistema inmune. Más específicamente, la presente divulgación proporciona el uso de una preparación derivada de calostro, que comprende altas concentraciones de anticuerpos anti-LPS, en el tratamiento y la mejora de enfermedades hepáticas crónicas.

La translocación microbiana también está asociada con la alteración de la inflamación hepática en diferentes trastornos hepáticos, incluyendo esteatohepatitis no alcohólica mediada por virus mediada por fármacos, y cualquier otro trastorno hepático. La translocación microbiana también puede estar asociada con resistencia a la insulina,

diabetes tipo 2, obesidad y sobrepeso. Como se muestra por la divulgación, la prevención de dicha translocación se puede lograr usando el calostro enriquecido con anti-LPS de la divulgación, opcionalmente junto con la regulación de linfocitos T reguladores, o cualquier otro componente del sistema inmune, usando una combinación del calostro enriquecido con anti-LPS con preparados de calostro enriquecidos con anticuerpos que reconocen antígenos 5 específicos de la enfermedad, por ejemplo, calostro enriquecido con anti-insulina. Por lo tanto, la divulgación proporciona además composiciones, composiciones combinadas y métodos para el tratamiento de cualquier enfermedad hepática aguda o crónica, diabetes y cualquier complicación asociada a las mismas, hígado graso, esteatohepatitis no alcohólica y obesidad.

10 Por lo tanto, es un objeto de la divulgación proporcionar una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro para su uso en el tratamiento de una enfermedad hepática crónica en un sujeto.

Otro objeto de la divulgación es proporcionar composiciones combinadas que comprenden una combinación de 15 calostro enriquecido con anticuerpos anti-LPS y anticuerpos que reconocen al menos un antígeno específico para un trastorno patológico y usos de las mismas en el tratamiento de trastornos relacionados con el sistema inmune.

Estos y otros objetos de la invención se harán más evidentes a medida que avance la descripción.

20 Resumen de la invención

La presente invención, como se define en las reivindicaciones, es una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro para su uso en el tratamiento de la 25 esteatohepatitis no alcohólica (NASH) en un sujeto.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación puede derivarse del calostro o de 30 huevos de aves.

En una realización de la divulgación, el trastorno patológico es una enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis o cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas. En otra realización de la divulgación, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, varices 35 sangrantes, circulación hiperdinámica asociada a cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia. En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es daño hepático.

En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es un trastorno relacionado con el sistema inmune 40 seleccionado del grupo que consiste en enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo.

Como alternativa, el trastorno patológico puede seleccionarse del grupo que consiste en peritonitis secundaria e 45 infección después de la cirugía, miocardiopatía e hipotensión hepáticas, síndrome hepatoadrenal, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Alzheimer, cualquier tipo de pérdida de memoria, cualquier tipo de demencia, trastornos de déficit de atención (ADHA), cualquier tipo de discapacidad del aprendizaje, efecto del alcohol o las drogas en el cerebro, cualquier tipo de enfermedad mediada por el sistema inmune incluyendo asma, y peritonitis.

50 En otra realización de la divulgación, la composición comprende además una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina adicionalmente puede derivarse de calostro o de huevos de aves.

En otra realización de la divulgación, la composición es para el tratamiento y/o la profilaxis del síndrome metabólico 55 o la esteatohepatitis no alcohólica, o ambos. En otra realización, la composición es para el tratamiento y/o la profilaxis de la diabetes, el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada, tal como la disminución de la tolerancia a la glucosa, la disminución de los niveles de insulina en suero, la disminución de los niveles de triglicéridos en el hígado, o la disminución de los niveles de colesterol.

La composición puede comprender además un agente terapéutico, vehículo o adyuvante y/o calostro no hiperinmune.

5 La composición de la divulgación puede formularse para administración oral, por inhalación en forma de aerosol, por administración parenteral, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica o rectal, o cualquier combinación de las mismas.

10 En una realización, la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS o cualquiera de sus fragmentos.

En otra realización de la divulgación, la composición inhibe la translocación microbiana. En otra realización, la composición inhibe la translocación microbiana y modula de este modo la activación inmune.

15 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero para modular la tolerancia inmune en un sujeto, o en otro aspecto, para modular la tolerancia oral en un sujeto.

La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

20 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un uso de una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico.

La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

25 En una realización de la divulgación, el trastorno patológico es una enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis o cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas.

30 En otra realización de la divulgación, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, varices sangrantes, circulación hiperdinámica asociada a cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia.

35 En otra realización de la divulgación, el medicamento es para el tratamiento y/o la profilaxis del daño hepático.

40 En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es un trastorno relacionado con el sistema inmune seleccionado del grupo que consiste en enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo. Como alternativa, el trastorno patológico se selecciona del grupo que consiste en peritonitis secundaria e infección después de la cirugía, miocardiopatía e hipotensión hepáticas, síndrome hepatoadrenal, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Alzheimer, cualquier tipo de pérdida de memoria, cualquier tipo de demencia, trastornos de déficit de atención (ADHA), cualquier tipo de discapacidad del aprendizaje, efecto del alcohol o las drogas en el cerebro, cualquier tipo de enfermedad mediada por el sistema inmune incluyendo asma, y

45 peritonitis.

El medicamento puede comprender además una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina adicionalmente puede derivarse de calostro o de huevos de aves.

50 En otra realización de la divulgación, el medicamento modula el equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de cualquiera de una enfermedad autoinmune, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y

55 cualquier trastorno asociado con los mismos seleccionado de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

En otra realización de la divulgación, el medicamento es para el tratamiento y/o la profilaxis del síndrome metabólico o esteatohepatitis no alcohólica o ambos, el tratamiento y/o la profilaxis de diabetes, el tratamiento de tolerancia a la

glucosa alterada, tal como la disminución de la tolerancia a la glucosa, la disminución de los niveles de insulina en suero, la disminución de los niveles de triglicéridos en el hígado, o la disminución de los niveles de colesterol.

5 El medicamento puede comprender además un agente terapéutico, vehículo o adyuvante y/o calostro no hiperinmune.

En una realización de la divulgación, el medicamento se formula para administración oral, por inhalación en forma de aerosol, o por administración parenteral, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica o rectal, o cualquier combinación de las mismas.

10

En otra realización, la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS o cualquiera de sus fragmentos.

15 En otra realización de la divulgación, la composición reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa y modula de este modo la activación inmune.

En otro aspecto, la presente divulgación proporcionó un uso de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero en la fabricación de un medicamento para modular la tolerancia inmune en un sujeto, o en otra realización, un medicamento para modular la tolerancia oral en un sujeto.

20

La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

25 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico que comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS. La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

30 En una realización de la divulgación, el trastorno patológico es una enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis o cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas.

35 En otra realización de la divulgación, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, varices sangrantes, circulación hiperdinámica asociada a cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia.

En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es daño hepático.

40 En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es un trastorno relacionado con el sistema inmune seleccionado del grupo que consiste en enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo. Como alternativa, el trastorno patológico se selecciona del grupo que consiste en peritonitis secundaria e infección después de la cirugía, miocardiopatía e hipotensión hepáticas, síndrome hepatoadrenal, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Alzheimer, cualquier tipo de pérdida de memoria, cualquier tipo de demencia, trastornos de déficit de atención (ADHA), cualquier tipo de discapacidad del aprendizaje, efecto del alcohol o las drogas en el cerebro, cualquier tipo de enfermedad mediada por el sistema inmune incluyendo asma, y peritonitis.

45 50 En otra realización de la divulgación, la composición comprende además una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina adicionalmente puede derivarse de calostro o de huevos de aves.

55 En otra realización de la divulgación, la composición modula el equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de cualquiera de una enfermedad autoinmune, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos seleccionado de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es síndrome metabólico o esteatohepatitis no alcohólica, o ambos.

- 5 En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es diabetes. En otra realización, el trastorno patológico es tolerancia a la glucosa alterada.

En otra realización de la divulgación, el método disminuye la tolerancia a la glucosa, disminuye los niveles de insulina en suero, disminuye los niveles de triglicéridos hepáticos, o disminuye los niveles de colesterol.

10

En otra realización, la composición comprende además calostro no hiperinmune y/o un agente terapéutico, vehículo o adyuvante.

- 15 La composición de la divulgación puede administrarse por vía oral, por inhalación en forma de aerosol, o por administración parenteral, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica o rectal, o cualquier combinación de las mismas.

En otra realización, la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS o cualquiera de sus fragmentos.

20

En otra realización de la divulgación, el método reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa. En otra realización, el método reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa y modula de este modo la activación inmune.

- 25 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para modular la tolerancia inmune en un sujeto que comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero. Como alternativa, el método puede ser para modular la tolerancia oral.

- 30 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición para el tratamiento y la profilaxis de un trastorno patológico. La composición de la divulgación comprende como principio activo una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-lipopolisacáridos (anti-LPS) de mamífero y opcionalmente además uno o más componentes de calostro, leche o productos lácteos, y cualquier adyuvante. La preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS y cualquier fragmento de los mismos.

- 35 De acuerdo con una realización opcional, la composición de la divulgación puede comprender además una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro que reconoce al menos un antígeno específico para dicho trastorno, activando o inhibiendo de este modo una respuesta inmune dirigida específicamente hacia dicho trastorno. Dicha composición combinada puede comprender opcionalmente además un agente terapéutico adicional o cualquier vehículo y adyuvante.

40

Por lo tanto, de acuerdo con una realización específica, la divulgación proporciona una composición que comprende como principio activo una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-lipopolisacáridos (LPS) de mamífero. Dicha composición en la que dicha composición es particularmente aplicable para el tratamiento, prevención y profilaxis de enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas, opcionalmente dicha composición comprende adicionalmente un agente terapéutico adicional o cualquier vehículo y adyuvante.

45

- De acuerdo con otra realización opcional, la divulgación proporciona composiciones combinadas que comprenden una combinación de preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS con al menos una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro o aviar que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico. Dicha composición combinada puede comprender opcionalmente además un agente terapéutico adicional o cualquier vehículo y adyuvante. Estas composiciones combinadas pueden usarse para tratar una cualquiera de una enfermedad autoinmune, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, tal como diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

50

En otro aspecto, la presente descripción proporciona el uso de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero y opcionalmente de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro que reconoce al menos un antígeno específico para un trastorno patológico en la fabricación de una

composición para el tratamiento y la profilaxis de un trastorno patológico. Ha de apreciarse que la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS y cualquier fragmento de los mismos. De acuerdo con una realización opcional, la divulgación proporciona el uso de la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación fomentando la combinación con al menos una preparación de
 5 inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen al menos un antígeno específico para dicho trastorno. Dicha composición combinada puede usarse como una composición inmunomoduladora que activa o inhibe una respuesta inmune dirigida específicamente hacia dicho trastorno.

En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento y/o la profilaxis de un
 10 trastorno patológico. El método de la divulgación comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro de mamífero o de una composición que comprende la misma. Ha de apreciarse que la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS y cualquier fragmento de los mismos. Dicho método puede usarse para el tratamiento, prevención y profilaxis de enfermedad hepática aguda o crónica,
 15 cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas. De acuerdo con una realización opcional, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación se puede combinar además con al menos una inmunoglobulina que reconoce al menos un antígeno específico para dicho trastorno, activando o inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. Este método puede ser específicamente aplicable para tratar trastornos relacionados con el sistema inmune. Se ha de apreciar
 20 particularmente que las composiciones y las composiciones combinadas usadas por los métodos de la divulgación también pueden aplicarse para tratar una cualquiera de esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, tal como diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

25 Breve descripción de los dibujos

Figura 1. La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye las enzimas hepáticas.

Los valores son la media \pm DE. AST; transaminasa aspártica, y ALT; alanina aminotransferasa.

30 Figura 2: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de los linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en el hígado.

A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.

35 Figura 3: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD25+CD4+LAP-, CD45+LAP+ y CD3+LAP+ en el hígado. Los valores son la media.

A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.

40 Figura 4: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD45+LAP+ y CD8+LAP+ en el bazo.

A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.

Figura 5: El calostro T-IgG oral disminuye la insulina sérica en ratones Ob/Ob.

Los valores son la media \pm DE.

45 Figura 6: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral disminuye la tolerancia a la glucosa en ratones Ob/Ob.

Figura 7: La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye la lesión hepática en ratones Ob/Ob.

Los valores son la media \pm DE. AST; transaminasa aspártica, y ALT; alanina aminotransferasa.

50 Figura 8: La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye los triglicéridos (TG) hepáticos en ratones Ob/Ob.

Los valores son la media \pm DE.

Figura 9: La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD3+LAP+ en el bazo

55 A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.

Figura 10: La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD8+CD25+ en el bazo.

Los valores son la media \pm DE.

- Figura 11: La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD8+CD25+ en el bazo. Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 5 Figura 12: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en el tejido adiposo. A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 10 Figura 13: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD3+LAP+ en el tejido adiposo. A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 15 Figura 14: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en células vasculares estromales (que contienen preadipocitos). A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 20 Figura 15: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos CD4+CD25+LAP+ en células vasculares estromales (que contienen preadipocitos). A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 25 Figura 16: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral disminuye las enzimas hepáticas en ratones Ob/Ob. Los valores son la media \pm DE. AST; transaminasa aspártica, y ALT; alanina aminotransferasa.
- Figura 17: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral disminuye el colesterol total en ratones Ob/Ob. Los valores son la media \pm DE.
- 30 Figura 18: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral disminuye los TG hepáticos en ratones Ob/Ob. La administración oral de los calostros T-IgG e HIBC disminuye los TG hepáticos en ratones Ob/Ob. Los valores son la media \pm DE. La disminución fue significativa para el grupo A frente a D, E, F (*p <0,05).
- 35 Figura 19: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral disminuyó las células CD3+NK1.1+ en los hígados de ratones Ob/Ob. A. La administración oral de 1 μ g, 1 mg, 3 mg de T-IgG, junto con 100 μ g de HIBC, disminuyó las células CD3+NK1.1+ en los hígados de ratones Ob/Ob. Expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B: La administración oral de 1 μ g y 100 μ g de T-IgG, disminuyó las células CD3+NK1.1+ en los hígados de ratones Ob/Ob. Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 40 Figura 20: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta las células CD4+CD25+LAP-/LAP+ en los hígados de ratones Ob/Ob. A; expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B; Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 45 Figura 21: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral induce cambios en los linfocitos hepáticos CD25+LAP-. La administración oral de los calostros T-IgG e HIBC, induce cambios en los linfocitos hepáticos CD25+LAP-. Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 50 Figura 22: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral disminuye los linfocitos esplénicos CD25+LAP+. A. La administración oral de los calostros T-IgG e HIBC, disminuye los linfocitos esplénicos CD25+LAP+. Expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B: Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.
- 55 Figura 23: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta los linfocitos esplénicos CD4+CD25+LAP-. A. La administración oral de 1 y 3 mg de calostro T-IgG y de 100 mg de calostro HIBC, aumenta los linfocitos esplénicos CD4+CD25+LAP-.
- Figura 24: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta CD4+CD25+ en el tejido adiposo. A. La administración oral de calostros T-IgG, aumenta CD4+CD25+ en el tejido adiposo. Expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE.
- Figura 25: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta

CD4+CD25+ en los adipocitos.

A. La administración oral de 100 mg de calostro T-IgG, aumenta CD4+CD25+ en los adipocitos. Expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B. La administración oral de 1 ug, 100 mg y 1 mg de calostro T-IgG, aumenta CD4+CD25+ en los adipocitos. Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.

5

Figura 26: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta CD3+LAP+ en los adipocitos.

A. La administración oral de calostro T-IgG, aumenta CD3+LAP+ en los adipocitos. Expresión superficial promedio de marcadores en linfocitos. Los valores son la media \pm DE. B: Un dot blot representativo derivado del análisis FACS.

10

Figura 27: La administración de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+LAP- en los adipocitos.

A. La administración de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+LAP- en los adipocitos.

Descripción detallada de la invención

15

Una respuesta inmune productiva es resultado de la integración eficaz de señales positivas y negativas que tienen un impacto en las células inmunitarias tanto innatas como adaptativas. Cuando predominan las señales positivas, se produce activación celular y respuestas proinflamatorias, lo que da como resultado la eliminación de microorganismos patógenos, virus, así como una célula transformada. En ausencia de dicha estimulación productiva, la activación celular se bloquea y pueden producirse respuestas antiinflamatorias activas. La modulación de este sistema binario se produce a través de la acción de citocinas, vías de señalización aguas abajo y contacto célula-célula. La perturbación de estos umbrales puede dar como resultado respuestas aberrantes que son insuficientes para tratar microorganismos patógenos o que dan como resultado la pérdida de tolerancia y la inducción de respuestas autoinmunes. La presente invención muestra un efecto inmunomodulador de una preparación de

20 inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida en anticuerpos anti-lipopolisacáridos (LPS) que pueden actuar de forma activa para el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica.

25

Los linfocitos T reguladores (Tregs) se reconocen cada vez más como un componente inmunomodulador importante del sistema inmune adaptativo. La desregulación inmune puede conducir a la inflamación crónica como desencadenante de la insensibilidad crónica a la insulina. La presente divulgación muestra, en un ejemplo particular, que la administración oral de anticuerpos anti-LPS derivados de calostro promueven los Tregs en el tejido adiposo y en la vasculatura estromal asociada al tejido adiposo. Estas alteraciones están asociadas con el alivio del Síndrome Metabólico y la lesión hepática en el modelo de ratones ob/ob. Por lo tanto, la presente divulgación proporciona una nueva composición terapéutica para el alivio y el tratamiento del Síndrome Metabólico.

35

Los presentes inventores han demostrado que los anticuerpos anti-LPS administrados por vía oral promovían los Tregs en el hígado, bazo, tejido adiposo y SV (células vasculares estromales). Los linfocitos T CD25+ LAP+, linfocitos T CD4+ CD25+, linfocitos T CD4+ CD25+ LAP-, linfocitos T CD45+ LAP+ y linfocitos T CD3+ LAP+ se inducen en el hígado. Los linfocitos T CD45+ LAP+, linfocitos T CD8+ LAP+, linfocitos T CD3+ LAP+, linfocitos T

40 CD8+ CD25+ se inducen en el bazo. Los linfocitos T CD4+ CD25+, linfocitos T CD3+ LAP+, linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- se inducen en el tejido adiposo. Los linfocitos T CD4+ CD25+ y los linfocitos T CD4+ CD25+ LAP+ se inducen en las células vasculares estromales, las células CD3+ NK1.1+ en el hígado, y los linfocitos T CD25+ LAP- se disminuyen en el hígado.

45

Los diversos constituyentes del tejido adiposo, tales como adipocitos maduros y células vasculares estromales, tienen distintas funciones. Expresan y secretan diferentes tipos de moléculas bioactivas llamadas colectivamente adipocinas. Los patrones alterados de secreción de adipocinas caracterizan la obesidad y la resistencia a la insulina, que son los principales factores de riesgo para la diabetes mellitus tipo 2. Las diferencias regionales y genotípicas están presentes en las células vasculares estromales de ratas Zucker obesas y delgadas [Turkenkopf, I. J. et al. Int. J. Obes. 12:515-24 (1988)]. Los perfiles de expresión génica utilizando micromatrices de ADN mostraron diferencias entre tejido adiposo, adipocitos y células vasculares estromales [Permana (2008) *ibid.*]. La presente divulgación respalda además esta noción, que muestra que la distribución de Tregs en estos tejidos es importante en el síndrome metabólico y las enfermedades hepáticas.

50

55 La divulgación muestra además que la promoción de Tregs en el tejido adiposo y SV mediante la administración de anticuerpos anti-LPS está asociada con el alivio de la resistencia a la insulina. Esto se demuestra mediante pruebas de tolerancia a la glucosa. Además, el daño hepático inflamatorio se alivia con la presente divulgación, que se manifiesta por una disminución de las enzimas hepáticas.

Como se ha descrito anteriormente, la divulgación muestra que la administración oral de anticuerpos anti-LPS enriquecidos con calostro puede servir como un medio para promover Tregs en el tejido adiposo y la vasculatura estromal asociada al tejido adiposo.

5 La divulgación también presenta sinergia entre los componentes derivados de calostro y los anticuerpos anti-LPS por el efecto sobre la distribución de Tregs. Se identificaron varias proteínas en la leche materna como implicadas en la defensa del huésped [Kahn, S. E. et al. *Nature* 444:840-6 (2006)], incluyendo mediadores de altas concentraciones del sistema inmune innato [Poggi, M. et al. *Diabetologia* (2009)]. Entre estos mediadores se encuentran múltiples proteínas de defensina, esfingolípidos, osteopontina, exosomas, TLR, catelicidina, neurotoxina
 10 derivada de eosinófilos y proteína 1 de caja de grupo de alta movilidad, y LL-37 [Poggi (2009) *ibid.*; Nagatomo, T. et al. *Clin. Exp. Immunol.* 138:47-53 (2004); Admyre, C. et al. *J. Immunol.* 179:1969-78 (2007); Oppenheim, J. J. y Yang, D. *Curr. Opin. Immunol.* 17:359-65 (2005)]. Estos pueden activar el sistema inmune innato y adaptativo. Algunas de estas proteínas también se denominan "alarminas", en reconocimiento de su papel en la movilización del sistema inmune [Oppenheim (2005) *ibid.*]. Las alarminas tienen efectos quimiotácticos y de activación sobre las
 15 APC, y de este modo pueden amplificar las respuestas inmunes innatas y específicas de Ag a las señales de peligro [Yang, D. et al. *J. Immunol.* 173:6134-42 (2004); Oppenheim, J. J. et al. *Adv. Exp. Med. Biol.* 601:185-94 (2007)]. El BC (calostro bovino) contiene altos niveles de β -glucoesfingolípidos (BGS) [Martin, M.J. et al. *Lipids* 36:291-8 (2001); Sala-Vila, A. et al. *Nutrition* 21:467-73 (2005); Van, Y.H. et al. *Diabetes* 58:146-55 (2009); Nagatomo, T. et al. *Clin. Exp. Immunol.* 138:47-53 (2004)], cuya composición puede determinar el efecto de las APC u otros componentes del
 20 sistema inmune intestinal [Novak, J. et al. *Int. Rev. Immunol.* 26:49-72 (2007); Nowak, M. y Stein-Streilein, J. *Int. Rev. Immunol.* 26:95-119 (2007); Nikoopour, E. y Schwartz, J.A. *Inflamm. Allergy Drug Targets* 7:203-10 (2008); Admyre, C. et al. *J. Immunol.* 179:1969-78 (2007); Oppenheim, J. J. y Yang, D. *Curr. Opin. Immunol.* 17:359-65 (2005); Yang, D. et al. *J. Immunol.* 173:6134-42 (2004); Oppenheim, J. J. et al. *Adv. Exp. Med. Biol.* 601:185-94 (2007)]. Algunos de estos mediadores pueden servir como adyuvantes de la mucosa, mejorando la interacción entre
 25 subconjuntos de APC y Tregs en la mucosa intestinal [Vignali, D.A. et al. *Nat. Rev. Immunol.* 8:523-32 (2008); Margalit, M. et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 319:105-10 (2006); Godfrey, D.I. y Berzins, S.P. *Immunol.* 7:505-18 (2007); Margalit, M. e Ilan, Y. *Liver Int.* 25:501-4 (2005); Novak, J. et al. *Int. Rev. Immunol.* 26:49-72 (2007); Nowak, M. y Stein-Streilein, J. *Int. Rev. Immunol.* 26:95-119 (2007); Nikoopour, E. y Schwartz, J.A. *Inflamm. Allergy Drug Targets* 7:203-10 (2008)]. La inducción de linfocitos Treg puede dar como resultado una tolerancia duradera a
 30 antígenos de linfocitos β , mediada por la modulación inmune local en los nódulos linfáticos de drenaje pancreático (PLN) [Homann, D. et al. *J. Immunol.* 163:1833-8 (1999); Homann, D. et al. *Immunity* 11:463-72 (1999)]. Esta intervención ha demostrado ser muy prometedora en modelos animales, pero ha tenido poca eficacia en ensayos en seres humanos. En el ensayo de prevención de la diabetes, solo una subfracción de pacientes tratados mostraron un efecto beneficioso con la inmunización con autoantígenos de islotes [Skyler, J.S. et al. *Diabetes Care* 28:1068-76
 35 (2005)]. La prevención de la diabetes tipo 1 solo se observó cuando los pacientes fueron inmunizados durante la fase pre-diabética, y la inmunización fue incapaz de revertir la diabetes de inicio reciente [Larche, M. and Wraith, D. C. *Nat. Med.* 11:569-76 (2005)]. Por lo tanto, las intervenciones específicas de antígeno pueden requerir adyuvantes adicionales para su uso con éxito en seres humanos, especialmente en diabéticos de inicio reciente [Harlan (2005) *ibid.*].

40 Los presentes inventores han mostrado efectos dependientes de la dosis en el sistema inmune.

En resumen, la divulgación demuestra claramente que los anticuerpos anti-LPS junto con los adyuvantes de calostro pueden promover la acumulación de linfocitos Treg, y de ese modo sirven como un medio para aliviar la respuesta
 45 inflamatoria, mejorar el daño hepático y mejorar las complicaciones del Síndrome Metabólico. Además, de acuerdo con la divulgación, los linfocitos T reguladores en el tejido adiposo y las SV pueden servir como una nueva diana terapéutica en pacientes con síndrome metabólico. Además, las inmunoglobulinas en el calostro pueden promover los linfocitos T reguladores o cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de una manera específica y no específica de antígeno, dirigiéndose a antígenos espectadores, o dirigiéndose contra antígenos no asociados.

50 Por lo tanto, en un primer aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

55 "Tratamiento" como se usa en el presente documento, se refiere a la reducción o eliminación de la gravedad de un síntoma de la enfermedad, la frecuencia con la que se presenta dicho síntoma, o ambos.

"Profilaxis", como se usa en el presente documento, se refiere a prevenir o inhibir total o parcialmente un síntoma de

la enfermedad o la frecuencia con la que se presenta tal síntoma.

En un aspecto, la presente divulgación proporciona una composición para el tratamiento y la profilaxis de un trastorno patológico. La composición de la divulgación comprende como principio activo una preparación de
 5 inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-lipopolisacáridos (anti-LPS) de mamífero y opcionalmente además uno o más componentes de calostro, leche o productos lácteos, y cualquier adyuvante. La preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS y cualquier fragmento de los mismos. Opcionalmente, la composición de la divulgación puede comprender una combinación de preparación de
 10 inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS con al menos una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen al menos un antígeno específico para dicho trastorno, activando o inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. Se ha de apreciar además que las preparaciones de inmunoglobulina derivadas de calostro enriquecidas con anti-LPS de la divulgación se pueden combinar con cualquier otro fármaco inmunomodulador, incluyendo, pero sin limitación, otros anticuerpos derivados del calostro, otro antígeno, otro adyuvante, otras citocinas o cualquier tipo de molécula que
 15 pueda alterar cualquier componente del sistema inmune. La combinación se puede administrar como un producto, o en dos o más productos separados. La combinación puede administrarse conjuntamente o por separado una de la otra.

De acuerdo con una realización específica, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de
 20 calostro puede comprender inmunoglobulina monomérica, dimerica o multimérica seleccionada del grupo que consiste en IgG, IgA e IgM y cualquier fragmento de las mismas. Como se ha indicado anteriormente, en rumiantes, la principal diferencia de composición entre el calostro y la leche madura es el contenido muy alto de inmunoglobulina calostrual, cuya clase de IgG constituye el 80-90 %.

25 Por lo tanto, de acuerdo con una realización específica, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro de la invención comprende principalmente IgG, específicamente, IgG1 e IgG2.

La inmunoglobulina G (IgG) como se usa en el presente documento, es una inmunoglobulina multimérica, construida por dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Cada complejo tiene dos sitios de unión a antígeno. Esta es la
 30 inmunoglobulina más abundante y está distribuida de manera aproximadamente igual en sangre y en líquidos tisulares, constituyendo el 75 % de las inmunoglobulinas séricas en los seres humanos. En general, el número de subclases de IgG varió ampliamente entre diferentes especies, desde una subclase en conejos hasta siete subclases en caballos, lo que dificulta encontrar ortólogos. En seres humanos, por ejemplo, la IgG1 e IgG3 son las subclases de IgG más proinflamatorias. Sin embargo, en ratones, IgG2a e IgG2b son las moléculas de IgG más proinflamatorias que muestran una actividad mayor que las IgG1 e IgG3 de ratón en muchos sistemas modelo *in vivo*.
 35 *vivo*.

Opcionalmente o adicionalmente, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS puede comprender un anticuerpo secretor, específicamente, sIgA.
 40

Las IgA e IgM dimericas y multiméricas son secretadas por varios tejidos exocritos. La IgA es la inmunoglobulina secretora predominante presente en el calostro, la saliva, las lágrimas, las secreciones bronquiales, la mucosa nasal, el fluido prostático, las secreciones vaginales y las secreciones mucosas del intestino delgado. La producción de IgA
 45 excede la de todas las demás inmunoglobulinas, lo que la convierte en el principal anticuerpo producido por el organismo a diario y es la principal inmunoglobulina que se encuentra en la leche humana, el suero de leche y el calostro. La secreción de IgM es menos abundante pero puede aumentar para compensar las deficiencias en la secreción de IgA. La IgA que contiene J es producida y secretada por linocitos de plasma B localizados en la lámina propia justo debajo de la membrana basal de las células exocritas. La IgA tiene una estructura típica de cuatro cadenas de inmunoglobulina (M_r 160.000) compuesta por dos cadenas pesadas (M_r 55.000) y dos cadenas ligeras (M_r 23.000). En los seres humanos, hay dos subclases de IgA. Estas son IgA1 e IgA2 que tienen una y dos cadenas pesadas, respectivamente. IgA puede producirse como monómeros, dímeros, trímeros o multímeros. En el plasma, el 10 % de la IgA total es polimérica mientras que el 90 % restante es monomérica. La IgA secretada se une a un receptor de poli-Ig M_r 100.000 situado en la superficie basolateral de la mayoría de las células mucosales. El complejo receptor-IgA se transloca luego a la superficie apical donde se secreta IgA. La unión de IgA dimerica al
 50 receptor de poli-Ig depende completamente de la presencia de una cadena J. La IgA monomérica no se unirá al receptor.
 55

La diferencia en la función de IgG e IgA, sigue a la posición donde operan las moléculas. La IgA se encuentra principalmente en las superficies de la mucosa donde hay poco líquido tisular para transportar las células inmunes y

productos químicos. Por lo tanto, la IgA (a menudo como un dímero) se usará preferiblemente para la neutralización física de patógenos, y puede ser demasiado eficaz en otras funciones inmunes. Las IgG están presentes en el líquido tisular y la sangre donde hay una colección completa de leucocitos, sistema del complemento, macrófagos, etc., pueden neutralizar físicamente un patógeno de manera eficaz y también son más eficaces en un papel de 5 comunicación/presentación que la IgA, es decir, tienden a inducir una mejor opsonización por los fagocitos (por ejemplo, linfocitos T asesinos y macrófagos) y activar mejor el sistema del complemento.

Más específicamente, las preparaciones de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación se pueden obtener de uno cualquiera de calostro, suero de calostro, leche o calostro hiperinmunizado, suero de calostro (ya sea queso o caseína), suero de queso o caseína, directamente de leche desnatada, leche entera o una forma 10 reconstituida de dichas corrientes.

Se ha de apreciar que la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS comprendida dentro de la composición de la invención puede ser cualquier fracción de calostro. Por lo tanto, el término calostro cuando se usa 15 en el presente documento incluye leche de calostro, leche de calostro procesada, tal como leche de calostro procesada para eliminar parcial o completamente uno o más de grasa, desechos celulares, lactosa y caseína.

El calostro, o leche, que contiene los anticuerpos anti-LPS y opcionalmente, los anticuerpos específicos de antígeno se pueden recoger preferiblemente ordeñando al animal. El calostro o leche recolectada de este modo puede usarse 20 directamente, puede procesarse adicionalmente, por ejemplo para purificar los anticuerpos anti-LPS y opcionalmente, específicos de antígeno. Los métodos para la purificación (parcial) de anticuerpos (LPS y opcionalmente, específicos de antígeno) de calostro o leche están presentes en la técnica.

Se ha de apreciar además que se puede añadir cualquier adyuvante a las composiciones de la invención. Por lo tanto, los adyuvantes apropiados pueden ser cualquier antígeno, anticuerpo, glucoesfingolípidos, proteínas, 25 citocinas, moléculas de adhesión y componentes que pueden activar o alterar la función de la célula presentadora de antígeno o de cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de manera directa e indirecta.

Como alternativa, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS puede ser un anticuerpo purificado 30 por afinidad o cualquier fragmento del mismo. El término "anticuerpo" pretende incluir tanto moléculas intactas como fragmentos de las mismas, tales como, por ejemplo, Fab y F(ab')₂, que son capaces de unirse al antígeno. Los fragmentos Fab y F(ab')₂ carecen del fragmento Fc del anticuerpo intacto, desaparecen más rápidamente de la circulación, y pueden tener menos unión a tejido no específica que un anticuerpo intacto. Se apreciará que Fab y F(ab')₂ y otros fragmentos de los anticuerpos útiles en la presente invención se pueden usar para la 35 inmunomodulación, de acuerdo con los métodos divulgados en el presente documento para moléculas de anticuerpo intacto. Dichos fragmentos se producen típicamente por escisión proteolítica, usando enzimas tales como papaína (para producir fragmentos Fab) o pepsina (para producir fragmentos F(ab')₂).

Se dice que un anticuerpo es "capaz de reconocer específicamente" un cierto antígeno si es capaz de reaccionar 40 específicamente con un antígeno que, en este ejemplo particular, es un antígeno o una mezcla de antígenos específicos para un cierto trastorno relacionado con el sistema inmune, para de este modo unir la molécula al anticuerpo.

Un "antígeno" es una molécula o una porción de una molécula capaz de unirse a un anticuerpo, que además es 45 capaz de inducir a un animal a producir un anticuerpo capaz de unirse a un epítipo de ese antígeno. Un antígeno puede tener uno o más de un epítipo. El término "epítipo" se refiere a la porción de cualquier molécula capaz de unirse por un anticuerpo que también puede ser reconocido por ese anticuerpo. Los epítipos o "determinantes antigénicos" generalmente consisten en agrupaciones superficiales químicamente activas de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar, y tienen características estructurales tridimensionales específicas, así 50 como características de carga específicas.

En otra realización más, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS usada como principio activo para la composición de la invención se puede obtener a partir de un mamífero inmunizado con LPS o cualquier 55 fragmento del mismo. Opcionalmente, además de LPS, dicho mamífero de acuerdo con ciertas realizaciones, puede inmunizarse adicionalmente con al menos un antígeno o una mezcla de al menos dos antígenos específicos para dicho trastorno, así como con una mezcla de al menos dos anticuerpos diferentes dirigidos contra al menos dos antígenos diferentes asociados con la enfermedad.

De acuerdo con una realización, el LPS o cualquier antígeno usado para inmunizar dicho mamífero, preferiblemente,

bovino o aviar, puede proporcionarse como uno cualquiera de un péptido aislado y purificado, una proteína recombinante purificada, una proteína de fusión, un lisado celular, una preparación de membrana, una preparación nuclear, o una preparación citosólica de una cualquiera de las células de cultivo tisular, células primarias o muestras de tejido obtenidas de un sujeto que padece dicho trastorno.

5

De acuerdo con otra realización, la composición de la invención puede comprender opcionalmente además uno o más componentes de calostro tales como, por ejemplo, alarminas, defensinas, colostrina y cualquier otro carbohidrato, glucolípido o cualquier otra molécula o componente derivados de calostro o leche que pueda potenciar o inhibir adicionalmente la modulación de una respuesta inmune, o cualquier preparación, mezcla o combinaciones

10

de los mismos. Además, la composición de la invención puede comprender cualquier adyuvante adicional. Por lo tanto, los adyuvantes apropiados pueden ser cualquier antígeno, anticuerpo, glucoesfingolípidos, proteínas, citocinas, moléculas de adhesión y componentes que pueden activar o alterar la función de la célula presentadora de antígeno o de cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de manera directa e indirecta.

15

En algunas realizaciones de la composición, la composición comprende un constituyente de un huevo de ave, en el que el huevo de ave comprende IgY específica para LPS o un fragmento de la misma. La yema de huevo crudo puede usarse como fuente de anticuerpos. Sin embargo, los anticuerpos aviares normalmente se purifican o se concentran a partir de la yema antes del uso. El constituyente del huevo de ave puede concentrarse o purificarse según sea necesario, como entenderán los expertos en la técnica. En algunas realizaciones de la composición, la composición comprende la yema del huevo, o cualquier fracción que contenga anticuerpo IgY del mismo. La yema es preferible a la clara del huevo, ya que la yema típicamente contiene concentraciones de IgY mucho más altas que la clara. Sin embargo, la clara puede contener concentraciones de IgY suficientes para algunas aplicaciones.

20

En algunas realizaciones de la composición de anticuerpo, la IgY se concentra, se aísla o se purifica del constituyente del huevo de ave. Esto se puede lograr mediante una diversidad de métodos. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden purificar mediante el método de dilución en agua. El precipitado puede entonces eliminarse por cualquier método convencional, incluida la centrifugación. El sobrenadante puede almacenarse entonces congelado, por ejemplo a -20 °C. La IgY puede aislarse después por precipitación con sulfato de amonio y la posterior diálisis. Si se desea, el título de anticuerpos IgY puede determinarse mediante

30

inmunoensayo, por ejemplo ELISA. El método de dilución en agua se describe más completamente en la bibliografía conocida, por ejemplo, por Akita y Nakai (1993). Se describen otros métodos útiles, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos 4.550.019, la Patente de Estados Unidos 4.748.018, y la Publicación de Patente de Estados Unidos 2004/0161427. Los kits comerciales están disponibles, por ejemplo, en Promega Corporation (Madison, Wisconsin).

35

Algunas realizaciones de la composición de anticuerpo están sustancialmente aisladas. En dichas realizaciones, se ha eliminado una fracción significativa de un componente de yema sin anticuerpo. El componente de yema sin anticuerpo puede ser, por ejemplo, el componente lipídico de la yema, el componente de carbohidrato de la yema, los gránulos de la yema, el componente hidrófobo de la yema, el componente esteroide de la yema, y el componente de proteína sin inmunoglobulinas de la yema. La fracción del componente eliminado es al menos del 50 %. En algunas realizaciones, la fracción eliminada es al menos el 60 %, 75 %, 80 %, 90 %, 95 %, 99 % o el 99 %. Las fracciones más grandes eliminadas tienen la ventaja de producir una composición de anticuerpo más pura. Las fracciones eliminadas más pequeñas tienen la ventaja de requerir menos procesamiento.

40

Algunas realizaciones de la composición de anticuerpo están sustancialmente concentradas. En dichas realizaciones, la concentración de IgY será mayor en la composición que en la yema de huevo. Las composiciones de anticuerpo sustancialmente concentradas comprenden IgY que está al menos dos veces más concentrada que en la yema. Algunas realizaciones de la composición de anticuerpo sustancialmente concentrada se concentran en al menos un factor de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 100, 1000 o 10.000. Las composiciones de anticuerpo más concentradas tienen la ventaja de proporcionar la misma masa de anticuerpos en un volumen menor. Las composiciones de anticuerpo menos concentradas tienen la ventaja de requerir menos procesamiento.

50

Las composiciones de anticuerpo de la presente divulgación pueden procesarse para eliminar en gran medida todos los isotipos excepto IgG e IgY. En algunas realizaciones, la inmunoglobulina puede derivarse de numerosos donantes. Se puede usar cualquier cantidad de donantes. En algunas realizaciones, los anticuerpos se derivan de un donante. En realizaciones adicionales, los anticuerpos se derivan de 1 a 10 donantes. En realizaciones adicionales, los anticuerpos se derivan de 10-100 donantes. En realizaciones adicionales, los anticuerpos se derivan de 100-1000 donantes. En aún otras realizaciones, los anticuerpos se derivan de más de 1000 donantes.

55

En algunas realizaciones de la composición de anticuerpo, la composición se prepara mediante el método que

- comprende obtener un huevo puesto por un ave previamente inmunizada contra la influenza y separar la fracción de anticuerpo de una yema del huevo. En algunas realizaciones de la composición, las aves se han inmunizado activamente, por ejemplo mediante vacunación. Las aves son preferiblemente aves domesticadas. Las aves domesticadas pueden ser pollo, pato, cisne, ganso, pavo, pavo real, gallina de guinea, avestruz, paloma, codorniz, 5 faisán, tórtola u otra ave domesticada. El ave domesticada es preferiblemente un pollo. El ave domesticada es más preferiblemente un pollo domesticado criado principalmente para la producción de huevos o carne. El ave puede inmunizarse contra cualquier cepa de influenza, cualquier subtipo de influenza, cualquier tipo de influenza o combinaciones de los mismos.
- 10 El uso de huevos de pollos criados para producción de huevos o carne, y que están vacunados de acuerdo con este propósito, tiene la gran ventaja de utilizar como materia prima para el proceso huevos que están ampliamente disponibles comercialmente en grandes volúmenes y a precios muy bajos. Previamente, los animales utilizados para la producción de anticuerpos se han planteado única o principalmente para ese fin, y se han mantenido en pequeñas cantidades con un gasto muy elevado.
- 15 En algunas realizaciones de la composición de anticuerpo, la composición de anticuerpo se fabrica mediante un método que comprende inmunizar activamente una gallina con antígeno, recoger huevos de la gallina después de un período de inmunización, y separar la fracción de anticuerpo de una yema del huevo. Opcionalmente, la recolección de huevos de la gallina puede producirse continuamente después del período de inmunización. La inmunización del ave puede ocurrir por cualquier medio conocido en la técnica. Por ejemplo, se puede administrar una vacuna al ave 20 que se sabe que provoca eficazmente una respuesta inmune en las aves, o que se sabe que provoca eficazmente una respuesta inmune en los mamíferos. Muchas de dichas vacunas contra la influenza están disponibles comercialmente, y pueden ser desarrolladas rutinariamente por los expertos en la técnica sin una experimentación excesiva. Los expertos en la técnica conocen métodos adicionales para producir IgY con un objetivo específico.
- 25 Dichos métodos pueden encontrarse, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos 4.550.019, la Patente de Estados Unidos 4.748.018, y la Publicación de Patente de Estados Unidos 2004/0161427, y la Patente de Estados Unidos 6.537.500.
- 30 En una realización, la presente divulgación proporciona una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico en el que la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS se deriva de huevos de aves y comprende además calostro no hiperinmune.
- 35 En una realización de la divulgación, el trastorno patológico es una enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis o cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas. En otra realización, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, varices sangrantes, circulación hiperdinámica asociada a cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, 40 hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia. En otra realización, el trastorno patológico es daño hepático.
- En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es un trastorno relacionado con el sistema inmune seleccionado del grupo que consiste en enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, 45 aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo.
- Como alternativa, el trastorno patológico puede seleccionarse del grupo que consiste en peritonitis secundaria e infección después de la cirugía, miocardiopatía e hipotensión hepáticas, síndrome hepatoadrenal, carcinoma 50 hepatocelular, enfermedad de Alzheimer, cualquier tipo de pérdida de memoria, cualquier tipo de demencia, trastornos de déficit de atención (ADHA), cualquier tipo de discapacidad del aprendizaje, efecto del alcohol o las drogas en el cerebro, cualquier tipo de enfermedad mediada por el sistema inmune incluyendo asma, y peritonitis.
- En una realización, la composición inmunomoduladora de la divulgación es capaz de reducir, eliminar o inhibir la 55 translocación microbiana de la mucosa, modulando de este modo la activación inmune. Cabe señalar que la activación crónica del sistema inmune es un sello distintivo de la infección viral progresiva y predice el desenlace de la enfermedad. Se ha demostrado anteriormente que los productos microbianos circulantes, probablemente derivados del tracto gastrointestinal, en un proceso también conocido como "translocación microbiana de la mucosa", son la causa principal de la activación inmune sistémica relacionada con el virus. Por lo tanto, de acuerdo

con ciertas realizaciones, las composiciones de la divulgación pueden modular la función inmune, o como alternativa, reducir o cambiar el número de bacterias o de productos relacionados con bacterias no relacionados con la alteración del sistema inmune.

5 De acuerdo con una realización, la divulgación proporciona una composición que comprende como principio activo una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-lipopolisacáridos (LPS) de mamífero. Dicha composición en la que dicha composición es particularmente aplicable para el tratamiento, prevención y profilaxis de enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas, opcionalmente dicha composición comprende adicionalmente un agente terapéutico adicional o cualquier
10 vehículo y adyuvante.

Más específicamente, de acuerdo con la divulgación, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con la misma pueden ser, por ejemplo, al menos una de encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, hemorragia varicosa, circulación hiperdinámica asociada
15 con cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia.

En una realización adicional, la composición de la divulgación se puede usar para el tratamiento de trastornos patológicos tales como cualquier tipo de enfermedad viral, incluyendo VHC, VHB, VCM y VEB.
20

Se debe observar que tales preparaciones derivadas de calostro pueden combinarse, por lo tanto, con cualquier fármaco usado para la enfermedad hepática, como un agente terapéutico adicional.

El término "cirrosis" como se usa en el presente documento, se refiere al resultado histológico común final de una amplia variedad de enfermedades hepáticas crónicas, caracterizado por la sustitución del tejido hepático por tejido fibroso cicatricial y la regeneración de nódulos, lo que conduce a la pérdida progresiva de la función hepática. La cirrosis normalmente es causada por los virus de la hepatitis B y C, el alcoholismo y la enfermedad del hígado graso.
25

El término "ascitis", como se usa en el presente documento, describe la afección de acumulación de fluido patológico dentro de la cavidad abdominal, más comúnmente debido a cirrosis y enfermedad hepática grave.
30

Se debe observar que tales preparaciones derivadas de calostro de la divulgación se pueden combinar, por lo tanto, con cualquier agente terapéutico inmunomodulador o cualquier combinación o mezcla de los mismos, creando una composición inmunomoduladora combinada para el tratamiento y/o prevención de trastornos relacionados con el sistema inmune, una esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier
35 trastorno asociado con los mismos, una enfermedad infecciosa, trastornos neoplásicos o infecciosos.

Debe observarse que la composición derivada de calostro de la invención puede comprender adicionalmente cualquier adyuvante añadido.
40

Debe tenerse en cuenta que, dado que la translocación microbiana también está asociada con la alteración de la inflamación hepática en muchos trastornos hepáticos, incluida la esteatohepatitis no alcohólica mediada por fármacos, mediada por virus, y cualquier otro trastorno hepático, así como con resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, obesidad y sobrepeso, la prevención de esta translocación por la composición de la divulgación puede ser
45 aplicable en el tratamiento de estos trastornos. Por lo tanto, la divulgación proporciona además el uso de las composiciones anti-LPS de la divulgación, opcionalmente, combinadas con preparaciones de calostro enriquecidas por anticuerpos dirigidos contra antígenos asociados con una enfermedad, por ejemplo, anticuerpos antiinsulina, en el tratamiento de cualquier enfermedad hepática aguda o crónica, diabetes, y cualquier complicación de la diabetes, hígado graso, esteatohepatitis no alcohólica y obesidad.
50

En otra realización de la divulgación, la composición comprende además una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina adicional puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

55 De acuerdo con una realización opcional, la divulgación proporciona composiciones combinadas que comprenden una combinación de preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS con al menos una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico y modulan de este modo las células inmunorreguladoras, específicamente, los linfocitos T reguladores. Se ha de apreciar que dicha modulación puede dar como resultado,

por ejemplo, la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2/Th3, inhibiendo de este modo una respuesta inmune dirigida específicamente hacia dicho trastorno.

Las inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico y modulan de este modo las células inmunorreguladoras, específicamente, los linfocitos T reguladores, incluyen las siguientes:

Anticuerpos anti-influenza para el tratamiento y/o la profilaxis de la influenza; anticuerpos anti-VHC para los anticuerpos para el tratamiento y/o la profilaxis de cualquier tipo de cáncer de hígado o trastornos hepáticos agudos y crónicos asociados con la infección por VHC; anticuerpos anti-VHB para el tratamiento y/o la profilaxis de cualquier tipo de cáncer de hígado o trastornos hepáticos agudos y crónicos asociados con la infección por VHB; anticuerpos anti-VCM para el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos agudos y crónicos asociados con la infección por VCM; anticuerpos anti-amiloide para el tratamiento y/o la profilaxis de la enfermedad de Alzheimer, encefalopatía hepática, cualquier tipo de pérdida de memoria, trastornos de déficit de atención (ADHA), cualquier tipo de discapacidad del aprendizaje, efecto del alcohol o drogas en el cerebro, anticuerpos contra cualquier antígeno viral, bacteriano, de espiroqueta, priónico, parasitario, de espora o fúngico para el tratamiento y/o la profilaxis de trastornos agudos y crónicos asociados con la infección relevante; anticuerpos anti-insulina para el tratamiento y/o la profilaxis de cualquier trastorno asociado con la resistencia a la insulina; anticuerpos contra cualquier tipo de antígeno asociado al cáncer para el tratamiento y/o la profilaxis de cualquier trastorno neoplásico, incluyendo metastásico y no metastásico, sólido y no sólido que está asociado al antígeno diana; anticuerpos contra antígenos específicos de enfermedad y asociados a enfermedad para el tratamiento y/o la profilaxis de cualquier tipo de enfermedad autoinmune o mediada por inmunidad; anticuerpos anti-HSV, anti-virus JC, anti-adenovirus, anti-virus parainfluenza y anti-RSV para el tratamiento y/o la profilaxis de una enfermedad vírica; anticuerpos anti Mycoplasma/Legionella para el tratamiento y/o la profilaxis de neumonía; anticuerpos anti-PTHrp, aldosterona, esteroides, GH y prolactina para el tratamiento y/o la profilaxis de tumores secretores; anticuerpos anti IL-12, omp C para el tratamiento y/o la profilaxis de IBD; anticuerpos anti-factor intrínseco para el tratamiento y/o la profilaxis de anemia megaloblástica; anticuerpos anti H. pylori para el tratamiento y/o la profilaxis de infección por H. pylori; anticuerpos anti VEB para el tratamiento y/o la profilaxis de linfoma de Burkitt; y anticuerpos específicos para antígenos asociados con pancreatitis autoinmune, enfermedades pulmonares crónicas tales como CF, asma, etc., cirrosis hepática, fibrosis hepática (CCL4) e hipercalcemia.

De acuerdo con otra realización alternativa, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la invención puede comprender además inmunoglobulinas dirigidas a antígenos que no son específicos del trastorno tratado. Dichos antígenos pueden ser cualquier componente diana relacionado con el sistema inmune que tenga un efecto modulador sobre la respuesta inmune. Por lo tanto, el reconocimiento de dichos antígenos no específicos de la enfermedad por la preparación de inmunoglobulina de la invención puede dar como resultado la alteración de la respuesta inmune. Dicha modulación puede dar como resultado, por ejemplo, la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2/Th3, inhibiendo de este modo una respuesta inmune dirigida específicamente hacia dicho trastorno. De acuerdo con otra realización, la composición combinada de la invención puede comprender opcionalmente además un agente terapéutico adicional o cualquier vehículo y adyuvante.

Como alternativa o adicionalmente, la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro combinada de la invención, así como la composición inmunomoduladora derivada de la misma, pueden actuar de forma indirecta por activación o promoción de subconjuntos específicos de células reguladoras, o células presentadoras de antígeno, o por cualquier tipo de contacto célula-célula. Dicha composición combinada enriquecida con anti-LPS puede dirigirse hacia diferentes componentes del sistema inmune. Por ejemplo, la activación de linfocitos T reguladores específicos, linfocitos B o células presentadoras de antígenos, o cualquier otra célula que se asocie con un efecto sobre el sistema inmune, o induzca la secreción de citocinas o quimiocinas o afecte al sistema inmune de cualquier otra manera. La alteración o promoción de las células inmunitarias puede implicar además la inducción de cualquier tipo de células reguladoras, preferiblemente, linfocitos T reguladores, por ejemplo, células Th3, células Tr1, T17 o cualquier otro tipo de células reguladoras, efectoras o supresoras. Se ha de apreciar que las células Th17 son un subconjunto identificado recientemente de linfocitos T auxiliares CD4. Se encuentran en las interfaces entre el entorno externo y el entorno interno, por ejemplo, la piel y el revestimiento del tracto GI. Más específicamente, debe observarse que las preparaciones de inmunoglobulina enriquecidas con anti-LPS derivadas de calostro de la invención pueden promover los linfocitos T reguladores o cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de una manera específica y no específica de antígeno, dirigiéndose a antígenos espectadores, o dirigiéndose hacia antígenos no asociados.

Por lo tanto, de acuerdo con otra realización, la divulgación proporciona una combinación de una preparación de

5 inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la invención con al menos una preparación de inmunoglobulina adicional que comprende inmunoglobulinas dirigidas contra al menos un antígeno asociado con dicho trastorno, creando una composición combinada para el tratamiento de trastornos relacionados con el sistema inmune. Por lo tanto, dicha composición puede ser específica de antígeno o enfermedad o, como alternativa, puede aumentar o inducir células específicas o partes del sistema inmune de una manera no específica de antígeno, incluido un efecto espectador inmune.

10 En una realización, la composición modula los linfocitos T reguladores que conducen a la modulación del equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune anti-inflamatoria Th2, Tr1/Th3 o una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1, inhibiendo o activando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno.

15 En otra realización de la divulgación, la composición modula el equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de cualquiera de una enfermedad autoinmune, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos seleccionado de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

20 En otra realización de la divulgación, la composición es para el tratamiento y/o la profilaxis del síndrome metabólico o la esteatohepatitis no alcohólica, o ambos. En otra realización, la composición es para el tratamiento y/o la profilaxis de la diabetes, el tratamiento de la tolerancia a la glucosa alterada, tal como la disminución de la tolerancia a la glucosa, la disminución de los niveles de insulina en suero, la disminución de los niveles de triglicéridos en el hígado, o la disminución de los niveles de colesterol.

25 En una realización de la divulgación, la composición modula el equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1/Th2, potenciando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de enfermedades infecciosas y trastornos proliferativos.

30 La composición puede comprender además un agente terapéutico, vehículo o adyuvante y/o calostro no hiperinmune.

35 Se debe apreciar además que la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación se puede usar para un tratamiento activo o pasivo.

En una realización adicional de la composición inmunomoduladora de la divulgación, dicho trastorno relacionado con el sistema inmune es una cualquiera de enfermedad autoinmune, enfermedad infecciosa, y trastorno proliferativo.

40 Se ha de apreciar que la composición de la divulgación puede ser aplicable para tratar complicaciones agudas, o prevenir el desarrollo o la recidiva de estas complicaciones.

45 De acuerdo con una realización, la composición combinada de la invención conduce a la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo así una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. Dicha regulación puede implicar linfocitos T reguladores, células presentadoras de antígenos, cualquier tipo de linfocitos T o linfocitos B, la función de cualquier célula asociada directa o indirectamente con el sistema inmune, o cualquier tipo de citocina o quimiocina, o adyuvante. De acuerdo con esta realización específica de la divulgación, dicha composición puede ser aplicable en el tratamiento de una enfermedad autoinmune. Los ejemplos de trastornos autoinmunes incluyen, pero sin limitación, alopecia areata, lupus, espondilitis anquilosante, enfermedad de Meniere, síndrome antifosfolípido, enfermedad mixta del tejido conectivo, enfermedad de Addison autoinmune, esclerosis múltiple, anemia hemolítica autoinmune, miastenia gravis, hepatitis autoinmune, pénfigo vulgar, enfermedad de Behçet, anemia perniciosa, penfigoide buloso, poliartritis nodosa, cardiomiopatía, policondritis, dermatitis por esprúe celíaco, síndromes poliglandulares, síndrome de fatiga crónica (CFIDS), polimialgia reumática, enfermedad desmielinizante inflamatoria crónica, polimiositis y 50 dermatomiositis, la polineuropatía inflamatoria crónica, agammaglobulinemia primaria, síndrome de Churg-Strauss, cirrosis biliar primaria, pénfigo cicatricial, psoriasis, síndrome CREST, fenómeno de Raynaud, enfermedad de aglutininas frías, síndrome de Reiter, enfermedad de Crohn, fiebre reumática, lupus discoide, artritis reumatoide, mixta esencial, sarcoidosis crioglobulinemia, fibromialgia, esclerodermia, enfermedad de Grave, síndrome de Sjogren, síndrome de Guillain-Barre, síndrome del hombre rígido, tiroiditis de Hashimoto, arteritis de Takayasu,

fibrosis pulmonar idiopática, arteritis de células gigantes/temporal, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), colitis ulcerosa, nefropatía IgA, uveítis, diabetes insulínica (Tipo I), vasculitis, liquen plano y vitiligo. Las composiciones combinadas descritas en el presente documento pueden administrarse a un sujeto para tratar o prevenir trastornos asociados con una respuesta inmune anormal o no deseada asociada con trasplante de células, tejidos u órganos, por ejemplo, trasplante renal, hepático y cardíaco, por ejemplo, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), o para prevenir el rechazo de aloinjertos.

En aún otra realización, las composiciones combinadas de la divulgación pueden usarse para tratar una cualquiera de esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, por ejemplo, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

Como alternativa, la composición combinada de la invención puede conducir a la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1/Th2, potenciando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. Dicha regulación puede implicar linfocitos T reguladores, células presentadoras de antígenos, cualquier tipo de linfocitos T o linfocitos B, la función de cualquier célula asociada directa o indirectamente con el sistema inmune, o cualquier tipo de citocina o quimiocina, o adyuvante. De acuerdo con esta realización específica de la divulgación, dicha composición puede ser aplicable en el tratamiento de enfermedades infecciosas, y trastornos proliferativos.

De acuerdo con una realización específica de la divulgación, un trastorno proliferativo neoplásico puede ser un tumor sólido o no sólido, por ejemplo, carcinoma, sarcoma, melanoma, leucemia, mieloma o linfoma.

De acuerdo con otra realización específica, la composición de la divulgación está destinada a prevenir y/o tratar un carcinoma tal como carcinoma hepatocelular, cáncer de próstata, carcinoma de mama, carcinoma de colon. En aún otra realización, la composición de la divulgación se puede usar para prevenir y/o tratar la leucemia, más específicamente, leucemia aguda o crónica.

Como se usa en el presente documento para describir la presente divulgación, "cáncer", "tumor" y "neoplasia" se relacionan todos de manera equivalente a una hiperplasia de un tejido u órgano. Si el tejido es parte de los sistemas linfático o inmunitario, las células neoplásicas pueden incluir tumores no sólidos de células circulantes. Las neoplasias de otros tejidos u órganos pueden producir tumores sólidos. En general, los métodos y composiciones de la presente divulgación se pueden usar en el tratamiento de tumores sólidos y no sólidos.

La neoplasia, tal como se contempla en la presente divulgación, se puede seleccionar del grupo que consiste en carcinomas, melanomas, linfomas y sarcomas. Las neoplasias que pueden ser útiles en la presente divulgación pueden comprender, pero sin limitación, neoplasias hematológicas (incluyendo leucemia, linfoma y trastornos mieloproliferativos), anemia hipoplásica y aplásica (tanto inducida por virus como idiopática), síndromes mielodisplásicos, todos los tipos de síndromes paraneoplásicos (tanto inmunomediados como idiopáticos) y tumores sólidos (incluyendo pulmón, hígado, mama, colon, próstata, tracto GI, páncreas y Karposi). Más particularmente, el trastorno neoplásico puede ser carcinoma hepatocelular, cáncer de colon, melanoma, mieloma y leucemia aguda o crónica.

De acuerdo con otra realización, la composición inmunomoduladora de la divulgación puede ser específicamente aplicable para tratar enfermedades infecciosas, por ejemplo, afecciones causadas por patógenos virales tales como VHC, VHB, VCM y VEB.

De acuerdo con una realización particular, la composición inmunomoduladora combinada de la invención puede conducir a una respuesta antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3. Más específicamente, dicha respuesta antiinflamatoria puede ir acompañada de una disminución o reducción en la cantidad o expresión de citocinas proinflamatorias tales como IL-2, IL-17, IL-23, IFN- γ , IL-6. Dicha disminución o reducción de acuerdo con la invención puede ser una reducción de aproximadamente el 5 % al 99 %, específicamente, una reducción de aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o el 99 % en comparación con un control no tratado. En aún otra realización específica, la composición de la invención puede elevar y aumentar la cantidad o expresión de citocinas antiinflamatorias tales como TGF- β , IL-10, IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13. Más específicamente, el aumento, la inducción o la elevación de las citocinas antiinflamatorias puede ser un aumento de aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o el 99 % en comparación con un control no tratado.

Se debe apreciar que el efecto antiinflamatorio de la composición inmunomoduladora combinada de la invención se

- puede lograr mediante la activación o promoción de subconjuntos específicos de células reguladoras, células presentadoras de antígeno o cualquier tipo de contacto célula-célula, o a través de la activación directa o indirecta de citocinas y/o quimiocinas. Se debe apreciar además que puede estar involucrada cualquier tipo de célula reguladora o efectora, específicamente linfocitos T reguladores, incluyendo células Th3 y Tr1. Por lo tanto, las preparaciones de inmunoglobulina enriquecidas con anti-LPS derivadas de calostro de la invención pueden promover los linfocitos T reguladores o cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de una manera específica y no específica de antígeno, dirigiéndose a antígenos espectadores, o dirigiéndose contra antígenos no asociados.
- 10 Más específicamente, una célula relacionada con el sistema inmune activada o promovida por la composición de la invención puede ser una APC (tal como DC), linfocito Treg o cualquier otra célula asociada directa o indirectamente con el sistema inmune, incluyendo, pero sin limitación, plaquetas, macrófagos, cualquier tipo de linfocito B, linfocito T (incluyendo células negativas dobles), y cualquier tipo de célula presentadora de antígeno no profesional, adipocitos, célula endotelial, cualquier tipo de célula que sea parte de un órgano, específicamente, un órgano relacionado con el trastorno relacionado con el sistema inmune tratado y cualquier tipo de célula que tenga propiedades potenciadoras o supresoras reguladoras. Más particularmente, las composiciones de la invención demuestran un efecto antiinflamatorio sobre células relacionadas con el sistema inmune, tales como linfocitos T reguladores específicos, por ejemplo, adipocitos y células presentadoras de antígeno (APC), tales como DC. Por lo tanto, de acuerdo con una realización, la composición de la divulgación puede usarse para inducir al menos uno de linfocitos T reguladores (Treg), o cualquier célula que tenga propiedades reguladoras, supresoras o inductivas, adipocitos y células presentadoras de antígeno (APC) en un sujeto que padece un trastorno hepático.

Como se ha indicado anteriormente, las composiciones o las composiciones combinadas opcionales de la divulgación están destinadas a prevenir y/o tratar un trastorno patológico, específicamente trastornos hepáticos o un trastorno relacionado con el sistema inmune. Como se usa en el presente documento, el término "trastorno" se refiere a una afección en la que hay una alteración del funcionamiento normal. Una "enfermedad" es cualquier condición anormal del cuerpo o la mente que causa incomodidad, disfunción o angustia en la persona afectada o aquellos en contacto con la persona. A veces, el término se usa ampliamente para incluir lesiones, discapacidades, síndromes, síntomas, comportamientos anormales y variaciones atípicas de la estructura y la función, mientras que en otros contextos se pueden considerar categorías distinguibles. Debe observarse que los términos "enfermedad", "trastorno", "afección" y "enfermedad" se usan de forma equivalente en el presente documento. Se debe observar además que un "trastorno o enfermedad relacionada con el sistema inmune" o "trastorno hepático" puede ser cualquier trastorno asociado a, causado por, vinculado a, una respuesta inmune no normal. Dichos trastornos generalmente pueden producirse junto con una respuesta inmune alterada, o se cree que tienen un impacto sobre o por una respuesta inmune no normal.

La composición de la divulgación puede formularse para administración oral, por inhalación en forma de aerosol, o por administración parenteral, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica o rectal, o cualquier combinación de las mismas.

En una realización, la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS o cualquiera de sus fragmentos.

En otra realización de la divulgación, la composición inhibe la translocación microbiana. En otra realización, la composición inhibe la translocación microbiana y modula de este modo la activación inmune.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero para modular la tolerancia inmune en un sujeto, o en otro aspecto, para modular la tolerancia oral en un sujeto.

De acuerdo con una realización preferida, cualquiera de las composiciones de la divulgación puede administrarse por vía oral o por inhalación en forma de aerosol o por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, parenteral, transdérmica, intravaginal, intranasal, mucosa, sublingual, tópica, administración rectal o subcutánea, o cualquier combinación de las mismas. Se espera que los anticuerpos administrados por vía oral se degraden en el tracto gastrointestinal, dado el bajo pH gástrico y la presencia de proteasas gástricas e intestinales. Sin embargo, la IgG del calostro bovino (BCIg) se ha citado como particularmente resistente a la destrucción GI, en relación con otras inmunoglobulinas. Los primeros estudios de BCIg citaban una notable "resistencia a la digestión proteolítica en el intestino de un huésped heterólogo". También hay evidencia de que la IgG1 bovina es algo más resistente a la proteólisis por la tripsina, la quimotripsina y la pepsina que otras Ig. Estos resultados impulsaron gran parte del

desarrollo temprano de la terapia con anticuerpos orales. Más específicamente, la composición de la divulgación puede ser adecuada para administración por mucosas, por ejemplo, administración pulmonar, bucal, nasal, intranasal, sublingual, rectal, vaginal y cualquier combinación de las mismas.

- 5 Como se ha indicado anteriormente, aunque se prefieren la administración oral y nasal, debe apreciarse que puede ser aplicable cualquier otra vía de administración, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, parenteral, intravaginal, intranasal, por mucosa, sublingual, tópica, rectal o subcutánea, o cualquier combinación de las mismas.
- 10 Además, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS usada por las composiciones y composiciones combinadas de la divulgación se puede preparar en preparaciones tales como aditivos alimentarios, soluciones acuosas, preparaciones oleosas, emulsiones, geles, etc., y estas preparaciones pueden administrarse por vía oral, tópica, rectal, nasal, bucal o vaginal. Las preparaciones pueden administrarse en formulaciones de dosificación que contienen vehículos aceptables no tóxicos convencionales y también pueden incluir uno o más aditivos aceptables,
- 15 incluyendo sales, polímeros, disolventes, tampones, excipientes, agentes tamponantes, diluyentes, excipientes, agentes de suspensión, agentes lubricantes, adyuvantes, vehículos, sistemas de administración, emulsionantes, desintegrantes, absorbentes, conservantes, tensioactivos, colorantes, saporíferos o edulcorantes aceptables. Una forma de dosificación opcional de la presente invención puede ser un polvo para su incorporación en bebidas, píldoras, jarabes, cápsulas, comprimidos, gránulos, perlas, grageas masticables o aditivos alimentarios, usando técnicas conocidas en la técnica. Por lo tanto, la composición inmunomoduladora de la divulgación se puede
- 20 administrar en una forma seleccionada del grupo que consiste en polvos activos por vía oral, píldoras, cápsulas, tés, extractos, extractos secos, sublinguales, aerosoles, dispersiones, soluciones, suspensiones, emulsiones, espumas, jarabes, lociones, ungüentos, geles, pastas, parches dérmicos, inyectables, cremas vaginales y supositorios.
- 25 Las formulaciones terapéuticas se pueden administrar en cualquier formulación de dosificación convencional. Las formulaciones típicamente comprenden al menos un principio activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos aceptables de los mismos.

Cada vehículo debe ser farmacéutica y fisiológicamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros

30 ingredientes y no perjudicial para el paciente. Las formulaciones incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica o por inhalación). Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. La naturaleza, disponibilidad y fuentes, y la administración de todos estos compuestos, incluyendo las cantidades eficaces necesarias para producir efectos

35 deseables en un sujeto, se conocen bien en la técnica y no necesitan describirse adicionalmente en el presente documento.

La preparación de composiciones farmacéuticas es bien conocida en la técnica y se ha descrito en muchos artículos y libros de texto, véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro A. R. ed., Mack Publishing

40 Co., Easton, PA, 1990, y especialmente págs. 1521-1712 en el mismo.

La composición farmacéutica de la invención se puede administrar y dosificar de acuerdo con una buena práctica médica.

45 La composición de la invención puede comprender la sustancia activa en forma libre y administrarse directamente al sujeto a tratar. Las formulaciones comprenden típicamente al menos un principio activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos aceptables de los mismos. Cada vehículo debe ser farmacéutica y fisiológicamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes y no perjudicial para el

50 paciente.

Las formulaciones incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal o parenteral (incluyendo administración subcutánea (s.c.), intramuscular (i.m.), intraperitoneal (i.p.), intravenosa (i.v.) e intradérmica o por inhalación en la mucosa pulmonar). Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. La

55 naturaleza, disponibilidad y fuentes, y la administración de todos estos compuestos, incluyendo las cantidades eficaces necesarias para producir efectos deseables en un sujeto, se conocen bien en la técnica y no necesitan describirse adicionalmente en el presente documento.

Las composiciones farmacéuticas de la invención generalmente comprenden un agente tamponante, un agente que

ajusta la osmolaridad del mismo y, opcionalmente, uno o más vehículos, excipientes y/o aditivos farmacéuticamente aceptables como se conoce en la técnica. También pueden incorporarse en las composiciones principios activos complementarios. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un revestimiento, tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos.

Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos y similares. El uso de dichos medios y agentes para sustancias activas farmacéuticas se conoce bien en la técnica. Con la excepción de que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en la composición terapéutica.

En casos en los que la administración oral está en forma de un comprimido o cápsula, los componentes del fármaco activo (preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS o una combinación con otra preparación de inmunoglobulina) pueden combinarse con un vehículo inerte farmacéuticamente aceptable no tóxico, tal como lactosa, almidón, sacarosa, glucosa, azúcares modificados, almidones modificados, metilcelulosa y sus derivados, fosfato dicálcico, sulfato de calcio, manitol, sorbitol, y otros azúcares reductores y no reductores, estearato de magnesio, ácido esteárico, estearilfumarato de sodio, behenato de glicerilo, estearato de calcio y similares. Para la administración oral en forma líquida, los componentes de fármaco activo pueden combinarse con vehículos inertes farmacéuticamente aceptables no tóxicos tales como etanol, glicerol, agua y similares. Cuando se desea o se requiere, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes desintegrantes y agentes colorantes y saporíferos adecuados. Los agentes estabilizadores tales como antioxidantes, galato de propilo, ascorbato de sodio, ácido cítrico, metabisulfito de calcio, hidroquinona y 7-hidroxycumarina también se pueden añadir para estabilizar las formas de dosificación. Otros compuestos adecuados pueden incluir gelatina, edulcorantes, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábica, tragacanto o alginatos, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares.

En otro aspecto, la presente descripción proporciona el uso de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero y opcionalmente de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro que reconoce al menos un antígeno específico para un trastorno patológico en la fabricación de una composición inmunomoduladora para el tratamiento y la profilaxis de un trastorno patológico. Ha de apreciarse que la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS y cualquier fragmento de los mismos. Opcionalmente, la composición preparada mediante el uso de la divulgación puede comprender una combinación de la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación y al menos una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen al menos un antígeno específico para dicho trastorno. Dicho reconocimiento conduce a la alteración de los linfocitos T reguladores y, como resultado, causa la modulación del equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3 o hacia una respuesta inmune proinflamatoria Th1. De ese modo, se crea una composición inmunomoduladora combinada que inhibe o activa una respuesta inmune dirigida específicamente hacia dicho trastorno.

Se debe observar que pueden estar implicadas cualquier tipo de células reguladoras o efectoras, específicamente los linfocitos T reguladores, incluyendo Th3 y Tr1 [TH3, los linfocitos T se inducen preferiblemente en las superficies de la mucosa y secretan células del factor de crecimiento transformante (TGF)- β]. Además, debe observarse que las preparaciones de inmunoglobulina enriquecidas con anti-LPS derivadas de calostro de la invención pueden promover los linfocitos T reguladores o cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de una manera específica y no específica de antígeno, dirigiéndose a antígenos espectadores, o dirigiéndose contra antígenos no asociados.

De acuerdo con una realización, la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS usada para la invención comprende inmunoglobulina monomérica, dimérica o multimérica seleccionada del grupo que consiste en IgG, IgA e IgM y cualquier fragmento, mezcla o combinación de las mismas.

En aún otra realización más, el uso de acuerdo con la divulgación de la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro, derivada de leche o productos lácteos es para la fabricación de una composición o composición combinada que opcionalmente puede comprender además uno o más componentes de calostro, leche o productos lácteos y cualquier adyuvante, preferiblemente, alarminas, defensinas, colostrina y cualquier

- preparación, mezcla o combinación de los mismos. Se debe apreciar además que la composición de la divulgación puede comprender cualquier adyuvante adicional. Por lo tanto, los adyuvantes apropiados pueden ser cualquier antígeno, anticuerpo, glucoesfingolípidos, proteínas, citocinas, moléculas de adhesión y componentes que pueden activar o alterar la función de la célula presentadora de antígeno o de cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de manera directa e indirecta. Debe observarse que, de acuerdo con ciertas realizaciones, la presente divulgación proporciona adicionalmente el uso de calostro o cualquier preparación derivada de calostro en las composiciones combinadas de la divulgación para potenciar un efecto inmunomodulador de un agente terapéutico inmunomodulador.
- 5
- 10 El término alarmina, representa una matriz de proteínas huésped multifuncionales estructuralmente diversas que se liberan rápidamente durante la infección o daño tisular, y que tienen efectos movilizadores y activadores sobre las células que expresan receptores que participan en la defensa del huésped y la reparación tisular. Los inmunomediadores innatos que tienen función de alarmina incluyen defensinas, neurotoxina derivada de eosinófilos, catelicidinas y HMGB1.
- 15
- Las defensinas son proteínas catiónicas pequeñas (15-20 residuos) ricas en cisteína que se encuentran tanto en vertebrados como en invertebrados. Son activas contra bacterias, hongos y virus envueltos. Consisten en 15-20 aminoácidos, incluyendo de seis a ocho residuos de cisteína conservados. Las células del sistema inmune contienen estos péptidos para ayudar a matar las bacterias fagocitadas, por ejemplo, en los granulocitos neutrófilos y en casi todas las células epiteliales. La mayoría de las defensinas funcionan al penetrar la membrana celular microbiana por medio de la atracción eléctrica, y una vez integradas, forman un poro en la membrana que permite el flujo de salida.
- 20
- El término "colostrina", como se usa en el presente documento, se refiere a un polipéptido que, en su forma natural, se obtiene a partir de calostro de mamífero. La colostrina a veces se conoce como "colostrina", y tiene un peso molecular en el intervalo de 16.000 a 26.000 Daltons. La colostrina puede formar un dímero o trímero de subunidades (cada una con un peso molecular en el intervalo de 5.000 a 10.000 Daltons, preferiblemente 6.000 aminoácido único).
- 25
- 30 La colostrina está caracterizada por que estimula la producción de citocinas, especialmente interferón gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral TNF- α), interleucinas (por ejemplo, IL-6 e IL-10) y diversos factores de crecimiento.
- Como se ha indicado anteriormente, debe observarse que la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS y cualquier otra preparación de inmunoglobulina opcional utilizada por la invención puede obtenerse de un mamífero, inmunizado con LPS o cualquier fragmento del mismo y opcionalmente, además, con al menos un antígeno o una mezcla de al menos dos antígenos específicos para el trastorno a tratar. Los medios y métodos de la divulgación son adecuados para obtener una producción de anticuerpos específicos de antígeno elevada y prolongada en el calostro, la leche o los productos lácteos de cualquier mamífero lactante. Preferiblemente, dicho animal es un animal de granja. Los animales de granja son animales que el hombre utiliza comercialmente, ya sea para la producción de leche, carne o incluso anticuerpos. Los animales de granja ya usados para la producción a escala comercial de leche se prefieren para la presente invención, ya que para estos animales existen líneas y/o razas especiales que están optimizadas para la producción de leche. Preferiblemente, dicho animal de granja es una vaca o una cabra. Más preferiblemente, dicho animal de granja es una vaca.
- 35
- 40
- 45 En una realización de dicho uso de la divulgación, la composición reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa. En una realización de dicho uso de la divulgación, la composición reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa y modula de este modo la activación inmune.
- De acuerdo con una realización, la divulgación se refiere al uso de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero para fabricar una composición para el tratamiento, prevención y profilaxis de enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociado con las mismas, opcionalmente dicha composición comprende además un agente terapéutico adicional o cualquier vehículo y adyuvante.
- 50
- 55 De acuerdo con una realización del uso de la divulgación, esta composición particular reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa y altera de este modo el efecto directo de bacterias o cualquier otro agente infeccioso sobre la patogénesis de complicaciones de las complicaciones asociadas a enfermedades hepáticas agudas o crónicas ya sea por hipertensión portal o por cualquier otra causa.

Más específicamente, como se usa en el presente documento, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con la misma es al menos una de encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, circulación hiperdinámica asociada con cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia.

Se debe observar que estas complicaciones pueden ser consecuencia de infección crónica por VHC, hepatitis alcohólica, VHB crónica, esteatohepatitis alcohólica, lesión hepática inducida por fármacos, o cualquier otra causa de enfermedad hepática aguda o crónica.

De acuerdo con una realización opcional, la divulgación proporciona el uso de una combinación de preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS con al menos una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico. De acuerdo con esta realización particular, el uso de dicha combinación es para preparar una composición inmunomoduladora que modula los linfocitos T reguladores que conducen a la modulación del equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune anti-inflamatoria Th2, Tr1/Th3 o una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1, inhibiendo o activando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. Opcionalmente dicha composición combinada comprende además un agente terapéutico adicional o cualquier vehículo y adyuvante. Dicha composición modula los linfocitos T reguladores que conducen a la modulación del equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune anti-inflamatoria Th2, Tr1/Th3 o una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1, inhibiendo o activando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno.

En una realización adicional de la divulgación, el trastorno relacionado con el sistema inmune puede ser uno cualquiera de enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo.

De acuerdo con una realización del uso de la divulgación, la composición de la divulgación se puede usar para tratar una complicación aguda, o para prevenir el desarrollo o la reparación de estas complicaciones.

De acuerdo con otra realización, la composición combinada de la divulgación conduce a la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo así una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. De acuerdo con esta realización específica, dicha composición puede ser aplicable en el tratamiento de una enfermedad autoinmune.

Como alternativa, la composición combinada de la divulgación puede conducir a la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1/Th2, potenciando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. De acuerdo con esta realización específica, dicha composición puede ser aplicable en el tratamiento de enfermedades infecciosas, y trastornos proliferativos.

En una realización incluso adicional de dicho uso de la presente divulgación, la composición de la divulgación puede administrarse por vía oral o por inhalación como un aerosol, o por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, parenteral, transdérmica, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica, rectal o subcutánea, o cualquier combinación de las mismas.

La tolerancia se ha definido como la falta de respuesta a un automecanismo, o cualquier mecanismo mediante el cual una respuesta inmune potencialmente dañina se evita, suprime o cambia a una clase de respuesta inmune no perjudicial. Por lo tanto, la tolerancia se refiere al autorreconocimiento productivo, en lugar de a la ceguera del sistema inmune a sus propios componentes. Los presentes inventores han demostrado que la exposición a antígenos asociados a la enfermedad, ya sean autoantígenos o no, puede activar algunas partes del sistema inmune mientras que suprime la inmunidad no deseada de una manera específica del antígeno. Sin desear quedar ligado a la teoría, la administración oral de antígenos por un lado activa subconjuntos específicos de células, suprimiendo células específicas y alivia la autoinmunidad no deseada y, por otro lado, promueve respuestas inmunitarias de antígenos asociados a anti-virales o anti-tumorales. Para muchas enfermedades o trastornos mediados por el sistema inmune en los que el sistema inmunitario desempeña un papel, el equilibrio entre los diferentes tipos de señales/células que se promueven en el sistema inmune sistémico determinará el efecto inmunológico final.

La tolerancia oral es un proceso inmunológico natural impulsado por la presencia de un antígeno exógeno que se cree que ha evolucionado para tratar agentes externos que obtienen acceso al cuerpo a través de una ruta natural y

luego se convierten en parte del mismo. Entendiendo que la exposición oral a antígenos en el tracto gastrointestinal, tal como el intestino, produce una respuesta inmune activa, la terapia específica de antígeno parece un enfoque atractivo para la inmunoterapia hacia los antígenos presentes en la mucosa intestinal, donde se pueden abordar en un entorno inmunológico no perjudicial o no inflamatorio. Por consiguiente, se pueden activar células inmunes específicas y, la terapia específica de antígeno puede servir como una hepatitis crónica inmunoterapéutica, agentes infecciosos, síndrome metabólico y otros trastornos patológicos analizados en el presente documento.

Los mecanismos responsables de la homeostasis gastrointestinal implican una interacción compleja entre diferentes tipos de linfocitos T, incluyendo linfocitos T reguladores, células dendríticas (DC), linfocitos T asesinos naturales (NKT) y el microentorno intestinal.

El epitelio asociado a los folículos (FAE) desempeña un papel clave en la captación de antígenos y la posterior inducción de la inmunidad de la mucosa. Las células FAE M, al dirigirse al suministro de antígeno (Ag), facilitan la tolerancia oral a través de la reducción de linfocitos T CD4+ específicos de Ag y niveles aumentados de factor de crecimiento transformante (TGF)- β y linfocitos T reguladores (Tregs) productores de CD25+CD4+ de interleucina (IL)-10 en los tejidos linfoides tanto sistémicos como mucosales.

Las CD intestinales son reguladores clave de la inmunidad patógena, la tolerancia oral y la inflamación intestinal. Las DC relevantes pueden estar en el PP, MLN o LP de la mucosa de la vellosidad. Todos estos tejidos contienen una serie de subconjuntos de DC distintivos, incluidos algunos que pueden inducir preferiblemente la diferenciación de Tregs.

Las células NKT son un linaje único de linfocitos T que comparten propiedades tanto con células NK como con linfocitos T de memoria. Este subconjunto de linfocitos puede ser CD4+ o doble negativo y es reactivo a CD1d. Estas células son únicas en su cadena α de TCR V α 14-J α 18 invariante, y su cadena β de receptor de linfocitos T (TCR) está sesgada hacia V β 8.2, V β 2 y V β 7. Las células NKT son únicas en su reactividad al antígeno glicolípidico y en la notable producción de citocinas. La capacidad de las células NKT para generar respuestas tanto Th1 como Th2 indica su importancia como células inmunorreguladoras. El uso de ligandos NKT induce un efecto inmunomodulador profundo al alterar la plasticidad de estas células.

Los presentes inventores han demostrado un papel para las células NKT en la inducción de la tolerancia oral, y la evidencia reciente ha proporcionado evidencia de interferencia entre las células Tregs y NKT. Sin desear quedar ligado por la teoría, se cree que las células NKT producen citocinas inmediatamente después de la exposición a las señales de activación y pueden determinar la diferenciación de Tregs.

El hígado se considera importante para la tolerancia oral. El hígado es un sitio en el que los linfocitos T CD8+ apoptóticos se acumulan durante la fase de depuración de las respuestas inmunitarias periféricas. El hígado de ratón normal contiene una mezcla inusual de linfocitos, en la que abundan las células asesinas naturales (NK) y los linfocitos T asesinos naturales (NKT) y los linfocitos T apoptóticos también están presentes. Estas células son relevantes para la captura y eliminación de linfocitos T intrahepáticos. Se cree que la exposición continua de diversos tipos de células hepáticas a los LPS derivados de bacterias intestinales promueve la expresión de citocinas, moléculas presentadoras de antígenos y señales coestimuladoras que imponen la inactivación de los linfocitos T. Otras posibles explicaciones para el entorno tolerogénico en el hígado implican delección clonal, presentación de antígeno específica por células endoteliales o células de Kupffer, y la capacidad de inducir linfocitos T reguladores.

Diferentes estímulos en el microentorno hepático están asociados con el cebado de linfocitos T y la generación de una respuesta inmune eficaz, mientras que otros dan como resultado tolerancia. La presentación de antígenos en el hígado por células dendríticas y su migración al hígado representan parte de la interacción en el eje intestino-hígado. Las DC derivadas de hígado son intrínsecamente tolerogénicas en comparación con las DC de la piel, producen IL-10, y expresan niveles bajos de moléculas coestimuladoras. La secreción local de IL-10 y TGF- β por las células de Kupffer y los hepatocitos puede sesgar la función de DC hacia la generación de vías reguladoras en lugar de efectoras. Las células endoteliales sinusoidales del hígado (LSEC) son capaces de traficar antígenos a un compartimento endosomal temprano comprometido con la presentación en MHC clase I, lo que explica su capacidad de presentarse de forma cruzada en los linfocitos T CD8+. El resultado de la presentación de antígenos por LSEC es generalmente la tolerancia, con apoptosis de linfocitos T CD8+ y secreción de IL-4 e IL-10 por los linfocitos T CD4+. Los linfocitos T activados también quedan atrapados por los mecanismos dependientes de la molécula 1 de la adhesión intercelular (ICAM-1) dentro de los sinusoides como un mecanismo para regular las vías apoptóticas durante el control de las respuestas CD8 sistémicas. Los propios hepatocitos pueden funcionar como APC para activar los linfocitos T sin tratar. En la mayoría de los casos, la activación por parte de los hepatocitos conduce a la tolerancia específica de antígeno, pero este proceso también puede implicar la activación de Tregs.

Los Tregs periféricos se generan mediante la activación de los linfocitos T sin tratar por las DC inmaduras o en presencia de IL-10 y TGF- β , ambas de los cuales están presentes en el entorno hepático.

- 5 Los Tregs son importantes en el eje inmune intestino-hígado. Los Tregs CD4+CD25+ suprimen la activación de linfocitos T CD4+ por LSEC, células de Kupffer, o hepatocitos. Debido a que este proceso puede superarse mediante la activación de TLR4, la interacción entre Tregs, patógenos y otras células hepáticas determina el resultado de la activación inmune en el hígado. Los Tregs pueden frenar las respuestas inmunes no deseadas y regular las respuestas a la microflora, y pueden desempeñar un papel en una serie de enfermedades inflamatorias crónicas del intestino. Los Tregs pueden evitar respuestas inflamatorias perjudiciales contra los organismos comensales en el intestino inferior, protegiendo así contra las enfermedades inflamatorias del intestino. Se ha sugerido que diversos subconjuntos de linfocitos T presentan funciones reguladoras, incluyendo Tregs naturales, Tregs inducidos, células Tr1 y Th3. Estas células pueden activarse por citocinas, y su fase inductiva puede ser controlada por antígenos. Se cree que la mayoría de los linfocitos T reguladores CD4+ (Tr1, Th3 y CD4+CD25+) interactúan con las células dendríticas. Otros subconjuntos de Tregs, tales como las células TrE CD8+, pueden reconocer antígenos que se presentan por las células epiteliales intestinales.

- Los Tregs CD4+CD25+ se consideran instrumentales en la regulación de las respuestas inmunes en la mucosa. El TGF- β se ha convertido en una de las citocinas más importantes producidas en el intestino, y su interacción con Tregs CD4+CD25+ es clave para mantener un equilibrio entre la inmunidad y la tolerancia de los linfocitos T. La expresión de una forma estable de β -catenina en Tregs CD4+CD25+ da como resultado una mejora notable de la supervivencia de estas células. El número de Tregs necesarios para la protección contra una enfermedad inflamatoria del intestino podría reducirse sustancialmente cuando se usan Tregs CD4+CD25+ que expresan β -catenina estables. IL-35 es una citocina inhibidora producida por los linfocitos Treg y se requiere para una actividad supresora máxima. Como se analiza a continuación, los presentes inventores han demostrado la modulación de linfocitos Treg CD4+CD25+ con composiciones de acuerdo con la presente invención.

- Los Tregs Foxp3+ son importantes para el establecimiento y mantenimiento de la tolerancia de la mucosa. La apoptosis inducida por la privación de citocinas es un mecanismo prominente por el cual los Tregs inhiben el TCR efector. Como tal, los Tregs CD4+CD25+Foxp3+ inducen la apoptosis en los linfocitos T CD4+ efectores.

- La secreción de TGF- β por Th3 u otros linfocitos Treg se considera un factor clave en la tolerancia oral. Las células productoras de TGF- β son cruciales para la tolerancia oral y pueden ser reguladores maestros de la mayoría de los mecanismos desencadenados por la alimentación de antígenos. El péptido asociado a latencia (LAP) es el dominio amino terminal del péptido precursor de TGF- β , y permanece asociado no covalentemente con el péptido TGF- β después de la escisión y forma el complejo latente. La presencia de TGF- β o LAP unidos a la membrana en la superficie de Tregs ha relacionado a TGF- β con la función supresora de Tregs. Las células Th3 secretoras de TGF- β y las células reguladoras CD8+ se han asociado con tolerancia oral y son dependientes de TGF- β . Como se analiza a continuación, los presentes inventores han demostrado la modulación de linfocitos Treg LAP+ y LAP- con composiciones de acuerdo con la presente invención.

- Se ha descrito una forma unida a membrana de LAP que contiene TGF- β . Las células LAP+CD4+ median la supresión en el intestino a través de un mecanismo dependiente de TGF- β . Los presentes inventores han demostrado que los Tregs dependientes de TGF- β que expresan LAP de superficie se inducen/promueven por administración oral de anticuerpos anti-LPS. El TGF- β puede inducir la diferenciación de células productoras de IL-10, lo que indica que puede existir interferencia entre diferentes Tregs productores de citocinas en la inducción de tolerancia oral, por ejemplo, inducción de Tregs CD4+CD25-LAP+, que suprimen la autoinmunidad.

- Los subconjuntos de linfocitos CD8+ también están implicados en la inducción de tolerancia. Las células epiteliales intestinales (IEC) pueden promover Tregs CD8+ para procesar y presentar antígeno contra los linfocitos T. Los linfocitos T activados por IEC tienen función supresora, mientras que las IEC pueden inducir la proliferación de una pequeña fracción de linfocitos T periféricos CD8+. El subconjunto CD8+CD28- de linfocitos T CD8+ activados por IEC expresa CD101 y CD103, interactúa con IEC a través de gp180, y posee una función reguladora. Los linfocitos T CD8+ con actividad reguladora están presentes en el LP de individuos sanos normales, pero no en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), lo que indica que estas células desempeñan un papel activo en la tolerancia de la mucosa. La "presentación cruzada de antígeno", o la posibilidad de que las moléculas presentadas por las APC profesionales puedan filtrarse en la ruta del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (MHC-I) y se presenten en los linfocitos T CD8+, es un posible mecanismo. Como alternativa, el "cebado cruzado" de CD8+ por APC asociado con la activación de linfocitos T CD4+ puede ser un mecanismo responsable de la supresión. Los linfocitos

T CD8+ desempeñan un papel regulador a través de la secreción de TGF-β. Las poblaciones de linfocitos T CD8+ cebadas con antígeno producen IL-4 o IL-10, y pueden estar asociadas con la inducción de tolerancia.

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición que comprende una
 5 preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero para inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en el hígado, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el hígado, inducir linfocitos T CD45+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD45+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD8+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD8+ CD25+ en el bazo, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en el tejido adiposo, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el tejido adiposo, inducir
 10 linfocitos T CD4+ CD25+ en células vasculares estromales, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP+ en células vasculares estromales, disminuir células CD3+ NK1.1+ en el hígado, disminuir linfocitos T CD25+ LAP- en el hígado, aumentar linfocitos T CD25+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el bazo, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el tejido adiposo.

15 Los adipocitos son las células que componen principalmente el tejido adiposo, especializadas en el almacenamiento de energía en forma de grasa. Hay dos tipos de tejido adiposo, tejido adiposo blanco (WAT) y tejido adiposo pardo (BAT), que también se conocen como grasa blanca y grasa parda, respectivamente, y comprenden los dos tipos de células de grasa. Las células de grasa blanca o monovaculares contienen una gran gota de lípido rodeada por una capa de citoplasma. El núcleo está aplanado y ubicado en la periferia. Una célula de grasa típica tiene un diámetro
 20 de 0,1 mm, teniendo algunas dos veces ese tamaño y otras la mitad de ese tamaño. La grasa almacenada se encuentra en estado semilíquido y está compuesta principalmente por triglicéridos y éster de colesterol. Las células de grasa blanca secretan resistina, adiponectina y leptina. Las células de grasa parda o las células plurivacuolares tienen forma poligonal. A diferencia de las células de grasa blanca, estas células tienen un citoplasma considerable, con gotas de lípidos diseminadas por todas partes. El núcleo es redondo y, aunque se encuentra excéntricamente,
 25 no está en la periferia de la célula. El color pardo proviene de la gran cantidad de mitocondrias.

Como se muestra, mediante los Ejemplos, las composiciones de la divulgación disminuyeron significativamente los niveles séricos de triglicéridos, ALT, AST y glucosa. Por lo tanto, de acuerdo con una realización, la composición farmacéutica de la divulgación conduce al menos a uno de una disminución en los niveles séricos de colesterol,
 30 triglicéridos, ALT, AST y glucosa y una disminución en la resistencia a la insulina en un sujeto que padece un trastorno hepático o un trastorno relacionado con el sistema inmune, por ejemplo, síndrome metabólico. Donde se indica disminución, reducción, inhibición, se entiende que la composición de la divulgación conduce a una reducción de aproximadamente el 5 % al 99 % del nivel sérico de cualquiera de los triglicéridos, ALT, AST y glucosa, en un sujeto que padece un trastorno relacionado con el sistema inmune. Más específicamente, dicha reducción puede ser
 35 una reducción de aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más del 99 %, en comparación con los niveles antes del tratamiento, o los niveles de un control no tratado. Cuando se indica aumento, elevación, mejora, inducción, se entiende que la composición del disco conduce a la inducción, o aumento de aproximadamente el 5 % al 99 %. Más específicamente, dicho aumento puede ser un aumento de aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o más del 99 %, en comparación
 40 con los niveles antes del tratamiento, o los niveles de un control no tratado.

De acuerdo con una realización específica, la composición de la divulgación puede usarse para prevenir y/o tratar una enfermedad autoinmune, por ejemplo, síndrome metabólico o cualquiera de las afecciones que comprenden el
 45 mismo, cualquier afección asociada con, causada por, vinculada o que se cree que tiene un impacto en el síndrome metabólico, por ejemplo, al menos uno de dislipoproteinemia (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, colesterol HDL bajo), obesidad, NIDDM (diabetes mellitus no dependiente de insulina), IGT (tolerancia alterada a la glucosa), coagulabilidad sanguínea, defectos de fibrinólisis de la sangre e hipertensión.

50 El síndrome metabólico se caracteriza por un grupo de factores de riesgo metabólico en una persona, incluyendo:

- * Obesidad abdominal (tejido adiposo excesivo dentro y alrededor del abdomen);
- * Dislipidemia aterogénica (trastornos de la grasa en la sangre - triglicéridos altos, colesterol HDL bajo y colesterol LDL alto - que fomenta la acumulación de placa en las paredes arteriales); *Presión sanguínea elevada; * Resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa; *Estado pro-trombótico (por ejemplo, fibrinógeno o inhibidor del activador del plasminógeno-1 en la sangre elevados); y *Estado proinflamatorio (por ejemplo, proteína C-reactiva elevada en la sangre). Las personas con el síndrome metabólico tienen un mayor riesgo de enfermedad coronaria y otras enfermedades relacionadas con la acumulación de placa en las paredes de las arterias (por ejemplo, ictus y enfermedad vascular periférica) y diabetes tipo 2.

55

Más particularmente, la composición de la divulgación está destinada al tratamiento de la dislipoproteinemia, que puede incluir hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia y colesterol HDL bajo, obesidad, NIDDM (diabetes mellitus no dependiente de insulina tipo 2), IGT (tolerancia alterada a la glucosa), coagulabilidad de la sangre, defectos en la fibronólisis de la sangre e hipertensión.

De acuerdo con una realización específica, la composición inmunomoduladora de la divulgación se puede usar para tratar la diabetes, particularmente diabetes tipo 2. La diabetes mellitus, a menudo simplemente diabetes, es un síndrome caracterizado por metabolismo alterado y azúcar en sangre inapropiadamente alto (hiperglucemia) resultante de niveles bajos de la hormona insulina o de una resistencia anormal a los efectos de la insulina junto con niveles inadecuados de secreción de insulina para compensar. Los síntomas característicos son producción excesiva de orina (poliuria), sed excesiva y aumento de la ingesta de líquidos (polidipsia) y visión borrosa. Es probable que estos síntomas estén ausentes si el nivel de azúcar en la sangre está levemente elevado.

La Organización Mundial de la Salud reconoce tres formas principales de diabetes mellitus: tipo 1, tipo 2 y diabetes gestacional (que tiene lugar durante el embarazo), que tienen diferentes causas y distribuciones de población. Si bien, en última instancia, todas las formas se deben a que las células beta del páncreas no pueden producir insulina suficiente para prevenir la hiperglucemia, las causas son diferentes. La diabetes tipo 1 generalmente se debe a la destrucción autoinmune de las células beta pancreáticas. La diabetes tipo 2 se caracteriza por resistencia a la insulina en los tejidos diana, esto provoca la necesidad de cantidades anormalmente altas de insulina y la diabetes se desarrolla cuando las células beta no pueden satisfacer esta demanda. La diabetes gestacional es similar a la diabetes tipo 2 porque involucra resistencia a la insulina, las hormonas en el embarazo pueden causar resistencia a la insulina en mujeres genéticamente predisuestas a desarrollar esta afección.

Puede producirse una complicación aguda de la diabetes (hipoglucemia, cetoacidosis o coma hiperosmolar no cetósico) si la enfermedad no se controla adecuadamente. Las complicaciones graves a largo plazo incluyen enfermedad cardiovascular (riesgo duplicado), insuficiencia renal crónica, daño retiniano (que puede conducir a la ceguera), daño a los nervios (de varios tipos) y daño microvascular, lo que puede causar impotencia y mala cicatrización. La mala cicatrización de las heridas, especialmente de los pies, puede provocar gangrena, que puede requerir la amputación.

De acuerdo con otra realización, la composición inmunomoduladora de la divulgación se puede usar para el tratamiento de la diabetes tipo 1. La diabetes mellitus tipo 1 se caracteriza por la pérdida de las células beta productoras de insulina de los islotes de Langerhans en el páncreas, lo que conduce a una deficiencia de insulina. La principal causa de esta pérdida de células beta es un ataque autoinmune mediado por linfocitos T.

En otra realización más, la composición farmacéutica de la divulgación se puede usar para el tratamiento de un trastorno autoinmune. Los ejemplos de trastornos autoinmunes incluyen, pero sin limitación, alopecia areata, lupus, espondilitis anquilosante, enfermedad de Meniere, síndrome antifosfolípido, enfermedad mixta del tejido conectivo, enfermedad de Addison autoinmune, esclerosis múltiple, anemia hemolítica autoinmune, miastenia gravis, hepatitis autoinmune, pénfigo vulgar, enfermedad de Behcet, anemia perniciosa, pénfigoide bulloso, poliartritis nodosa, cardiomiopatía, policondritis, dermatitis por esprúe celíaco, síndromes poliglandulares, síndrome de fatiga crónica (CFIDS), polimialgia reumática, enfermedad desmielinizante inflamatoria crónica, polimiositis y dermatomiositis, la polineuropatía inflamatoria crónica, agammaglobulinemia primaria, síndrome de Churg-Strauss, cirrosis biliar primaria, pénfigo cicatricial, psoriasis, síndrome CREST, fenómeno de Raynaud, enfermedad de aglutininas frías, síndrome de Reiter, enfermedad de Crohn, fiebre reumática, lupus discoide, artritis reumatoide, mixta esencial, sarcoidosis crioglobulinemia, fibromialgia, esclerodermia, enfermedad de Grave, síndrome de Sjogren, síndrome de Guillain-Barre, síndrome del hombre rígido, tiroiditis de Hashimoto, arteritis de Takayasu, fibrosis pulmonar idiopática, arteritis de células gigantes/temporal, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), colitis ulcerosa, nefropatía IgA, uveítis, diabetes insulín dependiente (Tipo I), vasculitis, liquen plano y vitiligo. Las composiciones orales descritas en el presente documento pueden administrarse a un sujeto para tratar o prevenir trastornos asociados con una respuesta inmune anormal o no deseada asociada con trasplante de células, tejidos u órganos, por ejemplo, trasplante renal, hepático y cardíaco, por ejemplo, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), o para prevenir el rechazo de aloinjertos.

De acuerdo con una realización específicamente preferida, una enfermedad autoinmune tratada por la composición de la descripción puede ser una cualquiera de artritis reumatoide, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, arterosclerosis, asma, enfermedad de injerto contra huésped aguda y crónica, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria del intestino, psoriasis, uveítis, tiroiditis y hepatitis mediada inmunológicamente.

De acuerdo con otra realización, la composición de la divulgación se puede usar para el tratamiento de EM. La esclerosis múltiple (EM) típicamente se caracteriza clínicamente por una disfunción necrológica recurrente o crónicamente progresiva, causada por lesiones en el SNC. Patológicamente, las lesiones incluyen múltiples áreas de desmielinización que afectan al cerebro, los nervios ópticos y la médula espinal. La etiología subyacente es incierta, pero se cree ampliamente que la EM es, al menos parcialmente, una enfermedad autoinmune o mediada por el sistema inmune.

Por lo tanto, la divulgación incluye composiciones y métodos para tratar, retrasar o prevenir la aparición de EM, administrando por vía oral o por mucosas la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro de la divulgación. Se incluyen métodos en los que a un sujeto que tiene o está en riesgo de tener EM se le administra por vía oral la composición de la divulgación.

De acuerdo con otra realización preferida, la composición de la divulgación se puede usar para el tratamiento de AR. La artritis reumatoide (AR) es la artritis inflamatoria crónica más común y afecta aproximadamente al 1 % de los adultos, es de dos a tres veces más prevalente en las mujeres que en los hombres. La AR puede comenzar tan temprano como la infancia, pero el inicio generalmente ocurre en la quinta o sexta década.

El diagnóstico se puede realizar de acuerdo con los criterios de la American Rheumatism Association para la clasificación de la artritis reumatoide. Una cantidad terapéuticamente eficaz causará una mejora en uno o más de los siguientes: el número de articulaciones inflamadas, el grado de hinchazón y el rango de movimiento de la articulación. También se pueden realizar mediciones de laboratorio (por ejemplo, ESR y valor de hematocrito) y evaluaciones de características subjetivas (por ejemplo, dolor y rigidez matutina). La divulgación también incluye métodos para tratar la artritis autoinmune, por ejemplo, AR, en un sujeto mediante la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición de la divulgación que comprende preparaciones de inmunoglobulina derivadas de calostro.

Las composiciones de la divulgación descrita en el presente documento también pueden usarse para tratar o prevenir el rechazo contra injerto en un receptor de trasplante. Por ejemplo, las composiciones se pueden usar en una amplia diversidad de procedimientos de trasplante de tejidos y órganos, por ejemplo, las composiciones se pueden usar para inducir tolerancia central en un receptor de un injerto de células, por ejemplo, células madre tales como médula ósea y/o un tejido u órgano tal como islotes pancreáticos, hígado, riñón, corazón, pulmón, piel, músculo, tejido neuronal, estómago e intestinos. Por lo tanto, los nuevos métodos pueden aplicarse en tratamientos de enfermedades o afecciones que implican trasplantes de células, tejidos u órganos (por ejemplo, trasplante de hígado para tratar la hipercolesterolemia, trasplante de células musculares para tratar la distrofia muscular, o trasplante de tejido neuronal para tratar la enfermedad de Huntington o enfermedad de Parkinson).

De acuerdo con otra realización, la composición de la divulgación puede modular el equilibrio Th1/Th2, Th3 hacia una respuesta anti-Th2, Tr1/Th3 en un sujeto que padece IBD. Por lo tanto, de acuerdo con esta realización, la composición de la divulgación está destinada a tratar IBD. Las enfermedades inflamatorias del intestino (IBD) son trastornos gastrointestinales comunes que pueden percibirse como el resultado de un desequilibrio entre los subtipos Th1-proinflamatorios y Th2-antiinflamatorios de las respuestas inmunitarias.

Los pacientes con IBD tienen anticuerpos contra componentes de células de colon y varios antígenos bacterianos diferentes. Estos antígenos obtienen acceso al sistema inmune como consecuencia del daño epitelial. Las anomalías de la inmunidad mediada por linfocitos T, incluyendo la anergia cutánea y la disminución de la respuesta a los estímulos de los linfocitos T, también se han descrito en estos pacientes. Además, se identificaron cambios en la inmunidad mediada por células de la mucosa, incluyendo concentraciones aumentadas de células de IgG en la mucosa y cambios en los subconjuntos de linfocitos T, lo que sugiere la estimulación del antígeno.

En aún otra realización preferida, la composición de la divulgación se puede usar para el tratamiento de la aterosclerosis. La aterosclerosis es una enfermedad lentamente progresiva caracterizada por la acumulación de colesterol dentro de la pared arterial. El proceso aterosclerótico comienza cuando el LDL-C queda atrapado dentro de la pared vascular. La oxidación del LDL-C da como resultado la unión de monocitos a las células endoteliales que recubren la pared del vaso. Estos monocitos se activan y migran hacia el espacio endotelial donde se transforman en macrófagos, lo que conduce a una mayor oxidación de LDL-C. El LDL-C oxidado se absorbe a través del receptor depurador en el macrófago lo que conduce a la formación de células espumosas. Se genera un tapón fibroso a través de la proliferación y migración de las células del músculo liso arterial, creando así una placa aterosclerótica. Los lípidos que se depositan en las lesiones ateroscleróticas se derivan principalmente de las lipoproteínas que

contienen apo B plasmática. Estas incluyen quilomicrones, LDL-C, IDL y VLDL. Esta acumulación forma placas voluminosas que inhiben el flujo de sangre hasta que finalmente se forma un coágulo, obstruyendo una arteria y causando un ataque al corazón o un ictus.

5 Como alternativa, la preparación de inmunoglobulina usada por la composición de la invención puede reconocer y unirse al menos a un antígeno específico para el trastorno tratado y puede modular células inmunorreguladoras, específicamente linfocitos T reguladores. Dicha modulación puede dar como resultado, por ejemplo, la modulación del equilibrio de células Th1/Th2 hacia una respuesta inmune proinflamatoria Th1, activando de este modo una respuesta inmune dirigida específicamente hacia dicho trastorno.

10 Se debe apreciar que el efecto pro-inflamatorio de la composición inmunomoduladora de la invención se puede lograr mediante la activación o promoción de subconjuntos específicos de células reguladoras, células presentadoras de antígeno o cualquier tipo de contacto célula-célula a través de la activación directa o indirecta de citocinas y/o quimiocinas.

15 De acuerdo con esta realización específica de la divulgación, la modulación del equilibrio Th1/Th2, Th3 hacia una respuesta proinflamatoria Th1 puede ser particularmente aplicable en trastornos relacionados con el sistema inmune que tienen una respuesta antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3 desequilibrada no deseada, por ejemplo, un trastorno proliferativo neoplásico y no neoplásico, enfermedad infecciosa, enfermedad genética y trastornos neurodegenerativos.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un uso de una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

25 En una realización de la divulgación, el trastorno patológico es una enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis o cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas.

En otra realización de la divulgación, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, varices sangrantes, circulación hiperdinámica asociada a cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia.

35 En otra realización de la divulgación, el medicamento es para el tratamiento y/o la profilaxis del daño hepático.

En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es un trastorno relacionado con el sistema inmune seleccionado del grupo que consiste en enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo. Como alternativa, el trastorno patológico se selecciona del grupo que consiste en peritonitis secundaria e infección después de la cirugía, miocardiopatía e hipotensión hepáticas, síndrome hepatoadrenal, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Alzheimer, cualquier tipo de pérdida de memoria, cualquier tipo de demencia, trastornos de déficit de atención (ADHA), cualquier tipo de discapacidad del aprendizaje, efecto del alcohol o las drogas en el cerebro, cualquier tipo de enfermedad mediada por el sistema inmune incluyendo asma, y peritonitis.

El medicamento puede comprender además una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico. La preparación de inmunoglobulina adicionalmente puede derivarse de calostro o de huevos de aves.

50 En una realización, el medicamento modula los linfocitos T reguladores que conducen a la modulación del equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune anti-inflamatoria Th2, Tr1/Th3 o una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1, inhibiendo o activando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno.

55 En otra realización de la divulgación, el medicamento modula el equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de cualquiera de una enfermedad autoinmune, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y

cualquier trastorno asociado con los mismos seleccionado de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

5 En otra realización de la divulgación, el medicamento es para el tratamiento y/o la profilaxis del síndrome metabólico o esteatohepatitis no alcohólica o ambos, el tratamiento y/o la profilaxis de diabetes, el tratamiento de tolerancia a la glucosa alterada, tal como la disminución de la tolerancia a la glucosa, la disminución de los niveles de insulina en suero, la disminución de los niveles de triglicéridos en el hígado, o la disminución de los niveles de colesterol.

10 En una realización de la divulgación, el medicamento modula el equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1/Th2, potenciando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de enfermedades infecciosas y trastornos proliferativos.

15 El medicamento puede comprender además un agente terapéutico, vehículo o adyuvante y/o calostro no hiperinmune.

20 En una realización de la divulgación, el medicamento se formula para administración oral, por inhalación en forma de aerosol, o por administración parenteral, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica o rectal, o cualquier combinación de las mismas.

En otra realización, la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS o cualquiera de sus fragmentos.

25 En otra realización de la divulgación, la composición reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa. En otra realización, la composición reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa y modula de este modo la activación inmune.

30 En otro aspecto, la presente divulgación proporcionó un uso de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero en la fabricación de un medicamento para modular la tolerancia inmune en un sujeto, o en otra realización, un medicamento para modular la tolerancia oral en un sujeto.

35 En otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero en la fabricación de un medicamento para inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en el hígado, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el hígado, inducir linfocitos T CD45+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD45+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD8+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD8+ CD25+ en el bazo, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en el tejido adiposo, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el tejido adiposo, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en células vasculares estromales, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP+ en células vasculares estromales, disminuir células CD3+ NK1.1+ en el hígado, disminuir linfocitos T CD25+ LAP- en el hígado, 40 aumentar linfocitos T CD25+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el bazo, o inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el tejido adiposo.

45 La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

50 En un aspecto, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico que comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS. La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS puede derivarse del calostro o de huevos de aves.

En una realización de la divulgación, el trastorno patológico es una enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis o cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas.

55 En otra realización de la divulgación, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas se selecciona del grupo que consiste en encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis, varices sangrantes, circulación hiperdinámica asociada a cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia.

En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es daño hepático.

En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es un trastorno relacionado con el sistema inmune seleccionado del grupo que consiste en enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, 5 aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo. Como alternativa, el trastorno patológico se selecciona del grupo que consiste en peritonitis secundaria e infección después de la cirugía, miocardiopatía e hipotensión hepáticas, síndrome hepatoadrenal, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Alzheimer, cualquier tipo de pérdida de memoria, cualquier tipo de demencia, trastornos de déficit de atención (ADHA), cualquier tipo de discapacidad del aprendizaje, efecto del 10 alcohol o las drogas en el cerebro, cualquier tipo de enfermedad mediada por el sistema inmune incluyendo asma, y peritonitis.

En otra realización de la divulgación, la composición comprende además una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno 15 patológico. La preparación de inmunoglobulina adicionalmente puede derivarse de calostro o de huevos de aves.

En otra realización, la composición modula los linfocitos T reguladores que conducen a la modulación del equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune anti-inflamatoria Th2, Tr1/Th3 o una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1, inhibiendo o activando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho 20 trastorno.

En otra realización de la divulgación, la composición modula el equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de cualquiera de una 25 enfermedad autoinmune, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos seleccionado de diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y sobrepeso.

En otra realización de la divulgación, el trastorno patológico es síndrome metabólico o esteatohepatitis no alcohólica, 30 o ambos.

En otra realización, el trastorno patológico es diabetes. En otra realización, el trastorno patológico es tolerancia a la glucosa alterada.

35 En otra realización de la divulgación, el método disminuye la tolerancia a la glucosa, disminuye los niveles de insulina en suero, disminuye los niveles de triglicéridos hepáticos, o disminuye los niveles de colesterol.

En otra realización de la divulgación, el método modula el equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1/Th2, potenciando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia 40 dicho trastorno, y en donde dicha composición es para el tratamiento de enfermedades infecciosas y trastornos proliferativos.

En otra realización, la composición comprende además calostro no hiperinmune y/o un agente terapéutico, vehículo o adyuvante. 45

La composición de la divulgación puede administrarse por vía oral, por inhalación en forma de aerosol, o por administración parenteral, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica o rectal, o cualquier combinación de las mismas.

50 En otra realización, la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS o cualquiera de sus fragmentos.

En otra realización de la divulgación, el método reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa. En otra realización, el método reduce o inhibe la translocación microbiana de la mucosa y modula de este modo la activación 55 inmune.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para modular la tolerancia inmune en un sujeto que comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de

mamífero. Como alternativa, el método puede ser para modular la tolerancia oral.

Un método de la divulgación para inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en el hígado de un sujeto que comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que
 5 comprende una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS de mamífero. En otra realización, el método puede ser para inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el hígado, linfocitos T CD45+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD45+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD8+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el bazo, inducir linfocitos T CD8+ CD25+ en el bazo, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en el tejido adiposo, inducir linfocitos T CD3+ LAP+ en el tejido adiposo,
 10 inducir linfocitos T CD4+ CD25+ en células vasculares estromales, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP+ en células vasculares estromales, disminuir células CD3+ NK1.1+ en el hígado, disminuir linfocitos T CD25+ LAP- en el hígado, disminuir linfocitos T CD25+ LAP+ en el hígado, inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el bazo, o inducir linfocitos T CD4+ CD25+ LAP- en el tejido adiposo.

15 En un aspecto adicional, la presente divulgación proporciona un método para el tratamiento y/o la profilaxis de un trastorno patológico. El método de la divulgación comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro de mamífero o de una composición que comprende la misma. Ha de apreciarse que la preparación de inmunoglobulina o cualquier fracción de la misma, reconoce y se une a LPS y cualquier fragmento de los mismos.
 20 De acuerdo con una realización opcional, el método de la divulgación comprende la etapa de administrar una composición combinada de preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS de la divulgación con al menos una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulinas que reconocen al menos un antígeno específico para dicho trastorno, activando o inhibiendo de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno.

25 De acuerdo con una realización de la divulgación, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro, leche o uno o más productos lácteos, o cualquier fragmento o mezcla, combinación, o cualquier composición de los mismos, usada por el método de la divulgación comprende una inmunoglobulina monomérica, dimérica y multimérica seleccionada del grupo que consiste en IgG, IgA e IgM y cualquier fragmento de
 30 las mismas, preparaciones, mezclas y composiciones de las mismas. Más específicamente, la preparación de inmunoglobulina usada por el método de la divulgación puede comprender específicamente IgG, particularmente, IgG1 y/o IgG2 y cualquier fragmento de las mismas. Como alternativa o adicionalmente, la preparación de inmunoglobulina usada por el método de la divulgación puede comprender específicamente IgA dimérica secretora.

35 De acuerdo con otra realización, el método de la divulgación puede usar una composición o composición combinada que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro. Dicha composición opcionalmente comprende además uno o más componentes de calostro, preferiblemente, alarminas, defensinas, colostrina, o cualquier glucolípido, carbohidrato o cualquier preparación, mezclas y combinaciones de los mismos, o cualquier otro adyuvante. Debe observarse que la presente divulgación proporciona adicionalmente el
 40 uso de calostro o cualquier preparación derivada de calostro para potenciar un efecto inmunomodulador de un agente terapéutico inmunomodulador. En una realización específica, la composición o composición combinada usada por el método de la divulgación puede comprender cualquier adyuvante adicional. Por lo tanto, los adyuvantes apropiados pueden ser cualquier antígeno, anticuerpo, glucoesfingolípidos, proteínas, citocinas, moléculas de adhesión y componentes que pueden activar o alterar la función de la célula presentadora de antígeno o de
 45 cualquier otra célula relacionada con el sistema inmune de manera directa e indirecta.

En otra realización más, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS o cualquier otra preparación de inmunoglobulina usada por la invención se puede obtener de un mamífero, preferiblemente una vaca, inmunizado
 50 con LPS y opcionalmente, además, con al menos un antígeno o una mezcla de al menos dos antígenos específicos para un trastorno a tratar.

De acuerdo con una realización, el método de la divulgación comprende la etapa de administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-
 55 lipopolisacárido (LPS) de mamífero o cualquier composición que comprenda la misma. Se ha de apreciar que dicho método puede ser particularmente aplicable para el tratamiento, prevención y profilaxis de enfermedad hepática aguda o crónica, cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con las mismas.

Más específicamente, la enfermedad hepática aguda o crónica, la cirrosis y cualquier enfermedad o complicación asociada con la misma es al menos una de encefalopatía hepática, peritonitis bacteriana espontánea (SBP), ascitis,

circulación hiperdinámica asociada con cirrosis, síndrome hepatorenal, síndrome hepatopulmonar, hipertensión portopulmonar, hemorragia varicosa, insuficiencia suprarrenal y alteración del nivel de conciencia.

5 Se debe observar que estas complicaciones pueden ser consecuencia de infección crónica por VHC, hepatitis alcohólica, VHB crónica, esteatohepatitis alcohólica, lesión hepática inducida por fármacos, o cualquier otra causa de enfermedad hepática aguda o crónica.

10 De acuerdo con una realización opcional, la divulgación proporciona un método para tratar trastornos relacionados con el sistema inmune. De acuerdo con esta realización específica, el método de la divulgación comprende la etapa de administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS con al menos una preparación de inmunoglobulina derivada de calostro que comprende inmunoglobulinas que reconocen y se unen al menos a un antígeno específico para dicho trastorno patológico, o de una composición combinada que comprende la misma y opcionalmente un agente terapéutico adicional o cualquier vehículo y adyuvante.

15 De acuerdo con esta realización, la combinación usada por la divulgación modula los linfocitos T reguladores que conducen a la modulación del equilibrio celular Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune anti-inflamatoria Th2, Tr1/Th3 o una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1, inhibiendo o activando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno.

20 De acuerdo con otra realización, el método puede aplicarse particularmente para tratar un trastorno relacionado con el sistema inmune, por ejemplo, enfermedad autoinmunitaria, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, enfermedad infecciosa y trastorno proliferativo.

25 En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para tratar la tolerancia alterada a la glucosa.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para disminuir la tolerancia a la glucosa.

30 En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para disminuir los niveles de insulina en suero.

En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para disminuir los niveles de triglicéridos hepáticos.

35 En otra realización, la presente divulgación proporciona un método para disminuir los niveles de colesterol.

Debe observarse que el método de la divulgación es para el tratamiento de complicaciones agudas, para prevenir el desarrollo y/o la reaparición de estas complicaciones.

40 De acuerdo con una realización, la composición combinada usada por el método de la divulgación conduce a la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune antiinflamatoria Th2, Tr1/Th3, inhibiendo así una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. De acuerdo con esta realización específica de la divulgación, dicha composición puede aplicarse en el tratamiento de una cualquiera de una enfermedad autoinmune, esteatohepatitis no alcohólica, hígado graso, aterosclerosis, síndrome metabólico y cualquier trastorno asociado con los mismos, por ejemplo, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad y

45 sobrepeso. Como alternativa, la composición combinada usada por el método de la divulgación puede conducir a la modulación del equilibrio de células Th1/Th2, Tr1/Th3 hacia una respuesta inmune pro-inflamatoria Th1/Th2, potenciando de este modo una respuesta inmune específicamente dirigida hacia dicho trastorno. De acuerdo con esta realización específica, dicha composición puede ser aplicable en el tratamiento de una enfermedad infecciosa, y un trastorno proliferativo.

50 De acuerdo con una realización, el método de la divulgación puede ser específicamente aplicable para tratar enfermedades virales, incluyendo VHC, VHB, VCM y VEB.

55 En una realización adicional de dicho método de la divulgación, la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS, o cualquier composición que comprende la misma, se debe administrar por vía oral o por inhalación en forma de aerosol, o por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, parenteral, transdérmica, intravaginal, intranasal, mucosal, sublingual, tópica, rectal o subcutánea, o cualquier combinación de las mismas.

De acuerdo con una realización específicamente preferida, el método de la divulgación es específicamente adecuado para el tratamiento de un sujeto mamífero. "Mamífero" para fines de tratamiento, se refiere a cualquier animal clasificado como mamífero, incluyendo seres humanos, animales de investigación, domésticos y de granja, y animales de zoológico, deportivos o de domésticos, tales como perros, caballos, gatos, vacas, etc. En una realización particular, dicho sujeto mamífero es un sujeto humano.

"Tratamiento" se refiere a un tratamiento terapéutico. Aquellos que necesitan tratamiento son sujetos mamíferos que padecen una enfermedad relacionada con el sistema inmune. Por "paciente" o "sujeto que lo necesite" se entiende cualquier mamífero para el que se desea la administración de la composición inmunomoduladora de la invención, con el fin de prevenir, superar o ralentizar dicho padecimiento.

Los términos "cantidad eficaz" o "cantidad suficiente" significan una cantidad necesaria para lograr un resultado seleccionado. La "cantidad eficaz de tratamiento" está determinada por la gravedad de la enfermedad junto con los objetivos preventivos o terapéuticos, la vía de administración y el estado general del paciente (edad, sexo, peso y otras consideraciones conocidas por el médico tratante).

Como se ha indicado anteriormente, generalmente, la dosificación necesaria para lograr un efecto terapéutico dependerá no solo de factores tales como la edad, el peso y el sexo del paciente y el modo de administración, sino también del grado de progresión de la enfermedad y la potencia del derivado particular que se utiliza para el trastorno particular de la enfermedad en cuestión.

Debe apreciarse que la prevención o reducción del riesgo de desarrollar una enfermedad relacionada con el sistema inmune también se incluye dentro del alcance de la divulgación. Dicho método puede comprender la administración de una cantidad profilácticamente eficaz de la composición de la invención o de los principios comprendidos dentro de dicha composición, a una persona en riesgo de desarrollar una enfermedad.

El término "cantidad profilácticamente eficaz" pretende referirse a la cantidad de una composición farmacéutica combinada que evitará o reducirá el riesgo de que se produzca el evento biológico o médico que se pretende evitar en un tejido, un sistema, animal o ser humano por un investigador, veterinario, médico u otro especialista.

Se debe observar que para el método de tratamiento y prevención proporcionado en la presente divulgación, dicha cantidad terapéutica eficaz, o dosificación, depende de la gravedad y la capacidad de respuesta de la patología a tratar, durante el transcurso del tratamiento desde de varios días a varios meses, o hasta que se efectúa una cura o se logra una disminución de la patología. Los horarios óptimos de dosificación pueden calcularse a partir de mediciones de la acumulación de fármaco en el cuerpo del paciente. Los expertos pueden determinar fácilmente las dosis óptimas, las metodologías de dosificación y las tasas de repetición. En general, la dosificación se calcula de acuerdo con el peso corporal, y se puede administrar una vez o más diariamente, semanalmente, mensualmente o anualmente, o incluso una vez cada 2 a 20 años. Los expertos en la técnica pueden estimar fácilmente las tasas de repetición para la dosificación basándose en los tiempos de residencia medidos y las concentraciones de la composición de la invención en fluidos o tejidos corporales. Después del tratamiento exitoso, puede ser deseable hacer que el paciente se someta a terapia de mantenimiento para prevenir la reaparición de la patología, en donde la composición de la invención se administra en dosis de mantenimiento, una vez o más diariamente.

Una vez divulgada y descrita, debe entenderse que esta invención no está limitada a los ejemplos particulares, etapas de métodos y composiciones que se divulgan en el presente documento, ya que dichas etapas de métodos y composiciones pueden variar en cierta medida. También debe entenderse que la terminología utilizada en el presente documento se usa con el fin de describir realizaciones particulares solamente y no pretende ser limitativa, ya que el alcance de la presente invención estará limitado solo por las reivindicaciones adjuntas y equivalentes de las mismas.

Debe apreciarse que, como se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural, a menos que el contenido indique claramente lo contrario.

A lo largo de esta memoria descriptiva y los siguientes Ejemplos y reivindicaciones, a menos que el contexto requiera otra cosa, se entenderá que la palabra "comprender", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implican la inclusión de un entero o etapa o grupo de enteros o etapas, pero no la exclusión de ningún otro entero o etapa o grupo de enteros o etapas.

Los siguientes ejemplos son representativos de las técnicas empleadas por los inventores para realizar aspectos de la presente invención. Cualquier ejemplo que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona con fines comparativos.

5

Ejemplos

Los siguientes ejemplos son representativos de las técnicas empleadas por los inventores para realizar aspectos de la presente invención.

10

Ejemplo 1: Preparación de preparaciones enriquecidas con anti-LPS derivadas de calostro

El producto "BioGARD" es una preparación patentada de calostro suministrada por Anadis Limited. Cada comprimido BioGARD de Anadis es un comprimido oral sin recubrimiento de 1,2 g, que contiene 600 mg de polvo de calostro bovino liofilizado (BCP), junto con excipientes. El principio activo en los comprimidos BioGARD es polvo de calostro bovino liofilizado (BCP) ordeñado de vaqueros comerciales. Las vacas de estos rebaños, además de ser vacunadas contra patógenos bovinos de rutina, han sido vacunadas con una vacuna patentada de Anadis contra los antígenos externos de la pared celular de múltiples cepas de la bacteria E. coli, un importante organismo en la microflora intestinal humana. BCP Anadis es un producto natural con alto contenido en proteínas (> 80 %) y bajo contenido en lactosa y grasa, derivado del primer ordeño de vacas lecheras comerciales recolectado después del parto. Se presenta antes de la formación de comprimidos como un polvo concentrado liofilizado.

BCP Anadis contiene aproximadamente el 40 % de anticuerpos (inmunoglobulinas) en el polvo seco. Las inmunoglobulinas en el BCP de BioGARD tienen una alta actividad de unión contra el lipopolisacárido (LPS) de bacterias Gram-negativas. La unión de LPS se ensaya por Anadis usando un ELISA estandarizado y sistemas de detección de inmunotransferencia.

Tres vacas lecheras son inmunizadas con una mezcla de antígenos LPS. La vacuna de antígeno se administró durante las últimas ocho semanas de gestación. La leche calostrada se recogió durante los primeros dos días de lactancia. La grasa láctea se eliminó y la leche desnatada se pasteurizó a 56 °C durante 30 minutos y luego se coaguló por adición de enzima coagulante como en Hilpert, Human Milk Banking 1984. Después de eliminar el cuajo de leche que contenía caseína, el suero se centrifugó y el fino precipitado se descartó. Se añadió lentamente un volumen igual de solución saturada de sulfato de amonio al sobrenadante con mezcla continua como en Brandon et al. [Brandon et al., Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 49:613 (1971)]. Después de la centrifugación, el precipitado resultante se guardó y el sobrenadante que contenía lactosa y sales se descartó.

El precipitado se disolvió en tampón TRIS-HCl 0,01 M a pH 8 que contenía NaCl 0,32 M (30 % del volumen original). Esta solución se dializó extensamente contra cinco volúmenes del mismo tampón usando un cartucho SIY30 de membrana en espiral Amicon. La solución de anticuerpo se concentró entonces al 10 %, se congeló por congelación y se liofilizó.

Producción de fragmentos de anticuerpos calostro. Los fragmentos de anticuerpos se preparan de acuerdo con un método modificado basado en los métodos descritos por Jones R.G.A. y Landon J. [Jones R.G.A. y Landon J. J. Immunol. Methods 263: 57-74 (2002)]. Brevemente, se añade un volumen igual de tampón de acetato de sodio 0,2 M, pH 4,0, a un conjunto de calostro obtenido de animales inmunizados como se ha descrito anteriormente. El pH del conjunto de calostro diluido se ajustó a 4,6 y se incubó a 37 °C durante dos horas para precipitar las caseínas. Posteriormente, el calostro se centrifuga y se filtra (0,45 µm) para eliminar la caseína. El pH del suero de leche calostrada resultante se ajustó a pH 4,0 seguido de la adición de pepsina (soluciones enzimáticas con actividad 1:15.000) al 5,0 % p/p e incubación durante 20 horas a 45 °C. La digestión de pepsina se detuvo mediante la adición de 0,5 vol. de Tris 1 M pH 8 y se enfrió la mezcla de reacción a 4 °C. El pH de la reacción se ajusta a pH a 7,0 y la mezcla F(ab')₂ se concentra utilizando membrana de ultrafiltración de 30 kD y diafiltrado frente a >50 volúmenes de tampón de fosfato de sodio 20 mM/NaCl 150 mM a pH 6,0. A continuación, se eliminan los péptidos pequeños y la solución resultante que contiene F(ab')₂, pepsina y péptidos grandes se somete luego a una columna de intercambio aniónico Q Sepharose que une pepsina y agregados ácidos. Para obtener F(ab')₂ purificado, el Fc restante y la Ig no digerida se eliminan del F(ab')₂ (mezclado con los péptidos grandes restantes y la Ig no digerida), mediante Proteína G o mediante cromatografía AIP Prometic Mabsorbent.

Preparación de Fab' por 2-mercaptoetilamina (MEA). Para preparar Fab¹, se añaden 50 µl (1/9 vol.) de 2-mercaptoetilamina 0,1 M (MEA) en tampón de fosfato de sodio 0,1 M, pH 6,0, que contenía EDTA-disódico 5 mM

recién preparado, a 0,1-3,0 mg de F(ab')₂ en 0,45 ml de tampón de fosfato de sodio 0,1 M, pH 6,0. Después, la mezcla se incubó a 37 °C durante 90 min. Posteriormente, la mezcla de reacción se aplica en una columna PD-10, o una columna G25 adecuada, para eliminar el exceso de MEA. Se usa fosfato sódico 0,1 M (pH 6,0, con EDTA disódico 5 mM) como tampón de ejecución. El primer pico de proteína que contiene Fab', se recoge y se usa para 5 tratar las indicaciones diferentes correspondientes como se indica a continuación en el presente documento.

Para la preparación de la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS, se recogió calostro de aproximadamente 200 vaqueros comerciales. Las vacas de estos rebaños, además de ser vacunadas contra patógenos bovinos de rutina, han sido vacunadas con una vacuna patentada de Anadis contra los antígenos 10 externos de la pared celular de múltiples cepas de la bacteria E. coli, un importante organismo en la microflora intestinal humana. El calostro obtenido se congeló en bolsas individuales para los ensayos. Para el procesamiento, el calostro se descongeló, se agrupó y se eliminó la grasa. Cada lote se pasteurizó. El calostro se concentró por ultrafiltración para reducir el volumen antes de la liofilización. La etapa de ultrafiltración redujo la lactosa en el polvo final a menos del 7 % (desde aproximadamente el 50 %).

15 **Ejemplo 2: Uso de preparaciones de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro en el tratamiento de la hepatitis**

Para el modelo de hepatitis mediada inmunológicamente, ratones C57/bl macho de once a doce semanas se 20 inyectan en la vena de la cola con una dosis de 500 µg/ratón (aproximadamente 15 mg/kg) de Con A (MP Biomedicals, Estados Unidos) que se disuelve en Tris 50 mM pH 7, NaCl 150 mM, CaCl₂ 4 mM, que se sabe que induce hepatitis. A los animales de todos los grupos ensayados se les administra por vía oral usando diferentes concentraciones y preparaciones de anticuerpos específicos, o la preparación de BioGARD descrita en procedimientos experimentales, en comparación con los controles no tratados. Se hace el seguimiento de todos los 25 animales de todos los grupos ensayados para determinar los siguientes parámetros: niveles de aspartato aminotransferasa sérica (AST) y alanina aminotransferasa (ALT), examen histológico de muestras de hígado, análisis FACS de linfocitos intrahepáticos e intraesplénicos para marcadores NKT, medición de niveles séricos de citocinas y análisis de transferencia Western para determinar la expresión de los factores de transcripción STAT 1, 4 y 6 y NFκB, y se comparan con los grupos de control.

30 **Ejemplo 3: Administración oral de calostro enriquecido con anticuerpos anti-LPS**

Para la preparación de las preparaciones de inmunoglobulina enriquecidas con anti-LPS, se recogió calostro de aproximadamente 200 vaqueros comerciales. Las vacas de estos rebaños, además de ser vacunadas contra 35 patógenos bovinos de rutina, han sido vacunadas con una vacuna patentada de Anadis contra los antígenos externos de la pared celular de múltiples cepas de la bacteria E. coli, un importante organismo en la microflora intestinal humana. El calostro obtenido se congeló en bolsas individuales para los ensayos. Para el procesamiento, el calostro se descongeló, se agrupó y se eliminó la grasa. Cada lote se pasteurizó. El calostro se concentró por ultrafiltración para reducir el volumen antes de la liofilización. La etapa de ultrafiltración redujo la lactosa en el polvo 40 final a menos del 7 % (desde aproximadamente el 50 %).

Se prepararon dos composiciones que comprendían preparaciones de inmunoglobulina derivadas de calostro enriquecidas con anti-LPS vacunando vacas preñadas con antígenos de pared celular bacterianos (por ejemplo, LPS) preparados a partir de varias cepas de E. coli para producir anticuerpos altamente concentrados (incluyendo 45 IgG) contra LPS en calostro. En los siguientes ejemplos, esta composición se indica por "HIBC".

Se preparó una segunda preparación vacunando vacas preñadas con una vacuna que comprendía varias cepas de E. coli, y también enriquecida para LPS y otros antígenos de superficie, para producir anticuerpos altamente concentrados (incluyendo IgG) contra LPS en calostro. IgG se purificó entonces a partir de esta preparación de 50 calostro. En los siguientes ejemplos, esta composición se indica por "T-IgG"

Tabla 1: Diseño experimental

Grupo	DDW	Preparación de calostro (3 mg)	Administración
A	30 ml	-	PO
N = 10			
B	-	30 ml	PO

N = 10			
--------	--	--	--

Grupos experimentales. Se estudiaron dos grupos de ratones (Tabla 1). Los ratones (10 por grupo) se alimentaron (por vía peroral) diariamente durante 7 días con 30 ul de agua (control, grupo A) o 30 ul (aproximadamente 3 mg) de preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS (grupo B) que se disolvió en agua.

5 Después de 7 días, los ratones se sacrificaron. El día del sacrificio, se recogió la sangre cardíaca mediante técnicas estándar y luego se obtuvo suero para fines futuros.

Animales. Se usaron ratones C57Bl/6 se tratar (11-12 semanas de edad). Los ratones se obtuvieron en Harlan Laboratories (Jerusalem, Israel) y se mantuvieron en el Animal Core of the Hadassah-Hebrew University Medical School. A los ratones se les administró alimento para laboratorio estándar y agua a voluntad y se los mantuvo en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los experimentos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices del Hebrew University-Hadassah Institutional Committee for Care and Use of Laboratory Animals y con la aprobación del comité.

15 **Hígado:** Después de la recolección, los hígados se transfieren a PBS cortado, picado y homogeneizado en hielo usando un homogeneizador dounce con 9 ml de tampón de lisis estéril frío 1, dividido en tubos eppendorff (1,5 ml en cada tubo), y se mantienen en hielo durante 30 minutos, seguido de sonicación (cinco ciclos de 25 segundos) y centrifugación (a 4 °C, 14.000 RPM durante 15 minutos). Los sobrenadantes se recogen en un tubo, se toman muestras para la cuantificación de proteínas usando la técnica de Bradford y se almacenan a -20 °C.

20

Bazo. Después de la escisión, los bazos se trituran en rejillas de disociación de células (malla 60) en medio RPMI 1640, se centrifugan (a 4 °C, 1400 RPM durante 10 minutos) y se descarta el sobrenadante; los glóbulos rojos se lisan añadiendo 1 ml de tampón de lisis de RBC frío (cloruro de amonio 155 mM), seguido de aclarado tres veces con PBS frío y centrifugación.

25

Preparación de fracción citosólica de bazo. Se añadió tampón 1 frío al sedimento de células del bazo (en una relación de 6:1 de tampón con respecto a gránulo) y las células se dividieron en viales de 2 ml, se mantuvieron en hielo durante 30 minutos, se sometieron a sonicación cinco veces (25 segundos cada vez) y se centrifugaron (a 4 °C, 14.000 RPM durante 15 minutos); los sobrenadantes se recogieron después de todos los viales, se muestrearon para la cuantificación de proteínas y se mantuvieron a -20 °C.

30

Preparación de fracción de membrana de bazo. El sedimento restante de la etapa de centrifugación mencionada anteriormente del fraccionamiento citosólico se añade con 100-250 ml de tampón 2, se agita durante 30 minutos a 4 °C y se centrifuga (a 4 °C, 14.000 RPM durante 15 minutos). Los sobrenadantes se recogen entonces de todos los viales, se muestrean para la cuantificación de proteínas y se mantienen a -20 °C.

35

Aislamiento de linfocitos esplénicos y hepáticos para la determinación de subpoblaciones de linfocitos T.

Los ratones de diferentes modelos experimentales son sacrificados en los días indicados. Los linfocitos esplénicos y las células NKT se aíslan y se extraen los glóbulos rojos. Los linfocitos intrahepáticos se aíslan de la siguiente

40 manera: Después de cortar la vena cava inferior por encima del diafragma, el hígado se lava con PBS frío hasta que se vuelve pálido, seguido de la eliminación del tejido conectivo y la vesícula biliar. Los hígados y bazos se mantuvieron en RPMI-1640 + FCS. A continuación, los bazos se trituran a través de un filtro de células de nylon de 70 µm (Falcon) y se centrifugaron (1250 rpm durante 7 minutos) para la eliminación de restos celulares. Los glóbulos rojos se lisaron con 1 ml de tampón de lisis de cloruro de amonio 155 mM frío y se centrifugaron inmediatamente

45

(1250 rpm durante 3 minutos). Después, los esplenocitos se lavaron y se resuspendieron con 1 ml de RPMI + FCS. Se eliminaron restos de tejido conectivo. La viabilidad por tinción con azul de tripano fue superior al 90 %. Para los linfocitos intrahepáticos, los hígados se trituran primero a través de una malla de acero inoxidable (tamaño 60, Sigma) y la suspensión celular se puso en un tubo de 50 ml durante 5 minutos para permitir que los desechos celulares descendieran. Se pusieron lentamente 10 ml de Lymphoprep (Ficoll, Axis-Shield PoC AS, Oslo, Noruega)

50

en el mismo volumen de suspensión celular en tubos de 50 ml. Después, los tubos se centrifugaron a 1800 rpm durante 18 minutos. Las células en la interfaz se recogieron y se trasladaron a tubos nuevos que se centrifugaron de nuevo a 1800 rpm durante 10 minutos, para obtener un sedimento de células agotadas de hepatocitos a un volumen final de 250 µl. Se recuperaron aproximadamente 1×10^6 células/hígado de ratón. La viabilidad de las células se detectó mediante tinción con azul de tripano.

55

Aislamiento de adipocitos. El tejido adiposo (almohadillas de grasa visceral) se trituró y se incubó en tampón de bicarbonato de Krebs-Ringer (3 ml/g de tejido adiposo) que contenía glucosa 10 mM y albúmina sérica bovina al 2,5

%, incubado con 840 U/g de colagenasa tipo I (Sigma, Rehovot, Israel) a 37 °C con agitación suave durante 1 hora. Después, se filtra dos veces a través de malla de gasa (100 µm) y se centrifugó a 50 x g durante 5 minutos. Los adipocitos flotantes se separaron entonces del sedimento de la fracción de la vasculatura estromal (SV). La fracción inferior se retiró y se centrifugó a 200 x g durante 5 minutos para sedimentar las células SV. El número de células se contó entonces.

Análisis de citometría de flujo (FACS) para la determinación de diferentes subconjuntos de linfocitos.

Después del aislamiento de linfocitos de sangre, bazo o cualquier órgano, se ponen triplicados de $2-5 \times 10^5$ células/500 µl de PBS en tubos Falcon 2052, se incuban con 4 ml de BSA al 1 % durante 10 minutos y se centrifugan a 1400 rpm durante 5 minutos. Las células se suspenden de nuevo en 10 µl de FCS con anticuerpos primarios marcados 1:20 (FITC, APC o marcados con PE) dirigidos a los siguientes marcadores de linfocitos: CD3, CD4, CD8, NK1.1, CD25, FOX p3, células LAP, IL-17, Anexina, y marcadores de superficie para la activación de linfocitos T. Las mezclas de células y anticuerpos se mezclan cada 10 minutos durante 30 minutos. Las células se aíslan usando anti-CD3 y anti-CD4, anti-CD8 y anti-NK1.1, respectivamente. Las células se lavan dos veces en BSA al 1 % y se mantienen a 4 °C hasta la lectura. Para el grupo control, solo se añaden 5 µl de BSA al 1 %. La tinción superficial se realizó incubando células con anticuerpos y anti-CD 16/32 (bloquea Fc, eBioscience) a 4 °C en tampón FACS que contiene PBS y BSA al 0,5 %, durante 30 min. Las células se lavaron adicionalmente dos veces con tampón FACS, se resuspendieron en tampón FACS y se analizaron mediante citometría de flujo. La clasificación celular analítica se realiza en 1×10^4 células de cada grupo con un clasificador celular activado por fluorescencia (FACStar Plus, Becton Dickinson). Se usaron controles de isotipo apropiados en todos los experimentos. El análisis se realizó usando un instrumento FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA). Solo se contaron las células vivas, y se restó la fluorescencia de fondo de los linfocitos no tratados con anticuerpos. Las ventanas se colocaron en dispersiones hacia adelante y hacia los lados para excluir las células muertas y los glóbulos rojos. Los datos se analizaron mediante el trazado de contorno de dos colores Consort 30 (Becton Dickinson, Oxnard, CA, Estados Unidos) o los programas Cell Quest.

Análisis FACS para la determinación del porcentaje de linfocitos NKT. Inmediatamente después del aislamiento de los linfocitos, se ponen triplicados de $2-5 \times 10^4$ células/500 µl de PBS tubos Falcon 2052, se incuban con 4 ml de BSA al 1 % durante 10 minutos y se centrifugan a 350 g durante 5 minutos. Para la determinación del porcentaje de linfocitos NKT, se usan anticuerpos anti-CD3 y anti DX5 (Pharmlingen, Estados Unidos). La clasificación celular analítica se realiza en 1×10^4 células de cada grupo con un clasificador celular activado por fluorescencia (FACSTAE Plus, Becton Dickinson). Solo se cuentan las células vivas, y se resta la fluorescencia de fondo de los linfocitos no tratados con anticuerpos. Las ventanas se ajustan en dispersiones hacia adelante y hacia los lados para excluir las células muertas y los glóbulos rojos. Los datos se analizan con el programa de trazado de contorno de dos colores Consort 30 (Becton Dickinson, Oxnard, CA), o el programa CELLQuest 25.

Aislamiento de linfocitos NKT. La separación celular se realiza usando la clasificación de células magnéticas (MACS, Miltenyi Biotec, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las perlas magnéticas anti-CD3 y anti-DX5 se usan para la separación de linfocitos NKT. Las cuentas se eliminan entre las dos etapas de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se logra una precisión superior al 95 % mediante el análisis de células FACS.

Daño hepatocelular. La lesión hepática se evaluó mediante actividades en suero de transaminasa aspártica (AST) y alanina aminotransferasa (ALT), que se determinaron con un analizador automático.

45 Mediciones. Se midieron los siguientes parámetros: glucosa en sangre, colesterol total y triglicéridos. Los valores de glucosa en sangre se midieron con un glucómetro estándar. Los valores de triglicéridos y colesterol total en plasma se midieron mediante una máquina de análisis químico Reflovet Plus (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Alemania).

50 Prueba de tolerancia a la glucosa. Los ratones se sometieron a una prueba de tolerancia a la glucosa (GTT) el día 30 después de ayunar durante la noche. La glucosa se administró por vía oral (1,25 g por kg). Se realizaron mediciones de glucosa sérica en sangre de vena de la cola cada 15 minutos durante 3 horas. Los niveles de glucosa se midieron con un glucómetro estándar.

55 Niveles de glucosa por la mañana. Los grupos de estudio también se evaluaron mediante los niveles de glucosa por la mañana en reposo (sin ayuno).

Determinación de citocinas. Los niveles de IFN-γ y TGF-β se determinaron en suero mediante ELISA "sandwich", usando kits comerciales (Quantikine, R&D Systems, Minneapolis, MN, Estados Unidos). La insulina sérica también

se determinó mediante ELISA "sandwich", utilizando el kit comercial de Mercodia AB (Uppsala, Suecia) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Estadísticas. La significación estadística se determinó mediante la prueba t de Student de dos colas no pareada y solo se muestran valores de $p < 0,05$.

Medición de triglicéridos. El día indicado, los niveles de triglicéridos en suero se miden usando un espectrofotómetro (Cobas DP-25P).

10 **Puntuación de esteatohepatitis hepática.** Se fijó un segmento hepático de cada ratón en formaldehído al 10 % y se incorporó en parafina para su análisis histológico. Cinco secciones (5 μ m) se tiñeron con hematoxilina/eosina y se revisaron por dos patólogos de forma ciega. El examen histológico y la puntuación del grado de esteatohepatitis (puntuación NASH) se realizan utilizando el sistema de puntuación de esteatohepatitis.

15 **Examen histológico.** Se realiza tinción con hematoxilina/eosina de secciones de hígado incorporadas en parafina. Las secciones se examinan por dos patólogos experimentados (VD, YS) que están cegados a las condiciones del experimento.

Ejemplo 4: La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye las enzimas hepáticas

Los inventores evaluaron si los niveles de enzimas hepáticas, que indican daño hepático, de animales administrados por vía oral con preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS se mejoran debido al tratamiento. Los niveles de actividades de aspartil transaminasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) se determinaron mediante un analizador de química clínica, Reflovet Plus (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Alemania). La Figura 1 demuestra que la disminución fue significativa para el grupo de AST A frente a B ($*p < 0,001$). Esto demuestra una mejoría de la lesión hepática, que se manifiesta por una disminución clara y significativa en los niveles séricos de ALT y AST frente al grupo control.

30 **Ejemplo 5. La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en el hígado**

Aislamiento de linfocitos intrahepáticos. Los linfocitos intrahepáticos se aislaron después de que se sacrificasen los ratones, como se indica a continuación: Después de la extracción de los hígados, se mantuvieron en medio (RPMI-1640+FCS). Después, los hígados se trituraron a través de una malla de acero inoxidable (tamaño 60, Sigma) y la suspensión celular se puso en un tubo de 50 ml durante 5 min. Se puso Lymphoprep (10 ml, Ficoll, Axis-Shield PoC AS, Oslo, Noruega) en un volumen similar de suspensión celular en tubos de 50 ml. Los tubos se centrifugaron a 1800 rpm durante 18 minutos. Las células en la interfaz se recogieron y centrifugaron a 1800 rpm durante 10 minutos, para obtener un sedimento de células agotadas de hepatocitos a un volumen final de 250 μ l. Aproximadamente 1×10^6 células/hígado de ratón, se recuperaron y se analizaron mediante citometría de flujo.

Citometría de flujo. Se realizaron tinciones de las células de dos a tres superficies con los siguientes anticuerpos de superficie: anti-CD4-FITC y anti-CD25-PE. (Los anticuerpos se adquirieron en eBioscience, San Diego, CA). La tinción superficial se realizó incubando células recién aisladas con anticuerpos y anti-CD16/32 (bloques Fc, eBioscience) a 4 °C en tampón FACS que contenía PBS y BSA al 0,5 %, durante 30 min. Las células se lavaron dos veces con tampón FACS, se resuspendieron en tampón FACS y se analizaron mediante citometría de flujo. Se usaron controles de isotipo apropiados en todos los experimentos. El análisis se realizó usando un instrumento FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA) con software FCS express V.3 (software DeNovo, Los Ángeles, CA).

50 **Análisis estadístico.** El análisis estadístico se realizó con la prueba t de Student. $P \leq 0,05$ se consideró significativo.

Para determinar la especificidad del aumento de los linfocitos T reguladores en el hígado, se midió la expresión superficial promedio de los marcadores (CD4+CD25+) en linfocitos hepáticos utilizando citometría de flujo el día 7 (día del sacrificio) en todos los ratones tratados con 3,0 mg de preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS. La Figura 2A demuestra que la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de los linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en el hígado. La selección de poblaciones fue en CD4 y los valores son la media \pm DE.

Se muestra un dot blot representativo derivado de FACS realizado en linfocitos aislados de los hígados de ratones

tratados con la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS (grupo B) o de controles no tratados (grupo A) en la Figura 2B que muestra que la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de los linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en el hígado.

5

Ejemplo 6: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD25+CD4+LAP-, CD45+LAP+ y CD3+LAP+ en el hígado

El aislamiento de linfocitos intrahepáticos y el análisis de FACS se realizaron como se ha descrito anteriormente.

10

Citometría de flujo. Para la tinción de LAP, se usaron los siguientes anticuerpos: anti-CD3-Alexa-fluor 405, anti-CD45-PerCP-Cy5.5 y anti-LAP-APC. El anticuerpo policlonal específico anti-LAP de cabra biotinilado purificado por afinidad se adquirió en R&D Systems (Minneapolis, MN, Estados Unidos), y se usó estreptavidina-APC como reactivo secundario para detectar el anticuerpo primario biotinilado (R&D). Para la tinción de LAP, las células se preincubaron con LAP/anticuerpo de control durante 20 minutos, y se tiñeron con CD3- Alexa-fluor 405 o CD45-PerCP-Cy5.5, seguido de tinción con estreptavidina-APC.

15

Para determinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral promueve Tregs, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos derivados de tejido de los linfocitos T reguladores. La Figura 3 muestra la expresión superficial promedio de los marcadores (CD25+CD4+LAP-, CD45+LAP+ y CD3+LAP+) en linfocitos hepáticos medida usando citometría de flujo el día 7 (día del sacrificio) en todos los ratones tratados con 3,0 mg. Los valores son medias. Las Figuras 3A y B demuestran que la administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS aumentó un subconjunto de linfocitos T reguladores CD25+CD4+LAP-, CD45+LAP+ y CD3+LAP+ en el hígado.

20

Ejemplo 7: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD45+LAP+ y CD8+LAP+ en el bazo.

Para determinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral promueve Tregs, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos derivados de tejido de los linfocitos T reguladores en el bazo. La Figura 4 muestra la expresión superficial promedio de los marcadores (CD45+LAP+ y CD8+LAP+) en linfocitos esplénicos hepáticos medida usando citometría de flujo el día 7 (día del sacrificio) en todos los ratones tratados con 3,0 mg. Los valores son medias ± DE. Las Figuras 4A y B demuestran que la administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS aumenta un subconjunto de linfocitos T reguladores CD45+LAP+ y CD8+LAP+ en el bazo.

30

Ejemplo 8: Administración oral de calostro enriquecido con anticuerpos anti LPS a ratones Ob/Ob

Tabla 2: Diseño experimental

Grupo	PBS	T-IgG	HIBC
A	30 ul	-	-
N = 4			
B	-	100 ug/ml	-
N = 4			
C	-	-	100 ug/ml
N = 4			

40

Grupos experimentales. Se estudiaron tres grupos de ratones (Tabla 2). Se alimentaron ratones Ob/Ob (4 por grupo) diariamente durante 25 días (5 días a la semana) con 30 ul de PBS (control, grupo A) o 30 ul (= 100 ug) de calostro T-IgG (grupo B) que se disolvió en agua, o con 30 ul (= 100 ug) de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS (grupo C). Después de 4 semanas, los ratones se sacrificaron. El día del sacrificio, se recogió la sangre cardíaca mediante técnicas estándar y luego se obtuvo suero.

45

Animales. Para el modelo Ob/Ob, se usaron ratones Ob/Ob C57BL/6 macho jóvenes (de 6 a 7 semanas) que se adquirieron en Harlan Laboratories (Estados Unidos). Todos los ratones se mantuvieron en el Animal Core of the Hadassah-Hebrew University Medical School. A los ratones se les administró alimento para laboratorio estándar y agua a voluntad y se los mantuvo en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los experimentos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices del Hebrew University-Hadassah Institutional Committee for Care and Use of Laboratory Animals y con la aprobación del comité.

Ejemplo 9: T-IgG oral disminuye la insulina sérica en ratones Ob/Ob

10 Para evaluar adicionalmente el efecto de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral, se determinaron los niveles de insulina sérica en ayunas en ratones de los grupos A-C después de cuatro semanas de T-IgG o HIBC administrados por vía oral. La insulina sérica se determinó mediante ELISA "sandwich", utilizando el kit comercial de Mercodia AB (Uppsala, Suecia) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los sueros se recogieron de ratones Ob/Ob el día 30 después de sacrificar los ratones. La Figura 5
15 demuestra que los ratones a los que se administró T-IgG presentaban una disminución en los niveles de insulina en suero, lo que indica el impacto beneficioso de los anticuerpos anti-LPS sobre la resistencia a la insulina. Además, la disminución observada proporciona datos que sostienen una función importante para los adyuvantes derivados de calostro en el efecto metabólico.

20 Ejemplo 10: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral disminuye la tolerancia a la glucosa en ratones Ob/Ob.

Para examinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral puede disminuir en los niveles de glucosa en suero, los ratones Ob/Ob se sometieron a una prueba de tolerancia a la
25 glucosa (GTT) el día 30 después de ayunar durante una noche. La glucosa se administró por vía oral (1,25 g por kg). Se realizaron mediciones de glucosa en suero en sangre de vena de la cola cada 15 minutos durante 3 h. Los niveles de glucosa se midieron con un glucómetro estándar.

Como se muestra en la Figura 6, los ratones a los que se administró HIBC mejoraron la tolerancia a la glucosa
30 demostrada por valores de glucosa más bajos en la prueba de tolerancia a la glucosa con una disminución en el área bajo la curva en comparación con el grupo control. Tomados en conjunto, los datos obtenidos en los Ejemplos 9 y 10 sostienen la importancia de HIBC de acuerdo con la presente divulgación en la mejora del síndrome metabólico.

35 Ejemplo 11. La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye la lesión hepática en ratones Ob/Ob.

Habiendo demostrado que la administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS mejora diversos marcadores de síndrome metabólico, tales como disminución de la tolerancia a la glucosa y disminución de insulina en suero, los inventores evaluaron a continuación si los niveles de
40 enzimas hepáticas, que indican daño hepático, de los animales alimentados con la preparación también han mejorado debido al tratamiento. Los niveles de AST y ALT se determinaron mediante un analizador de química clínica, Reflovet Plus (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Alemania). La Figura 7 demuestra una disminución de los niveles de AST y ALT en ratones tratados con calostro T-IgG.

45 Ejemplo 12. La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye los TG hepáticos en ratones Ob/Ob.

Habiendo mostrado que la administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS mejora diversos marcadores de síndrome metabólico, el efecto de la administración oral de
50 preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS y calostro T-IgG sobre la acumulación de triglicéridos hepáticos se determinó al final del estudio, después de sacrificar a los ratones. La acumulación de triglicéridos intracelulares (TG) en el hígado se cuantificó utilizando una modificación del método de Folch. Los TG se extrajeron de alícuotas de hígados congelados y luego se ensayaron espectrofotométricamente usando el kit GPO-Trinder (Sigma, Rehovot, Israel) y se normalizaron con respecto al contenido de proteína en el
55 homogeneizado. Se calculó el contenido de triglicéridos hepáticos en todos los grupos tratados y de control.

La Figura 8 demuestra que la administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuyó el contenido de triglicéridos hepáticos en comparación con los ratones en el grupo de control. La disminución fue significativa para HIBC con respecto a los controles (*P < 0,04).

Ejemplo 13. La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD3+LAP+ en el bazo.

5 Para determinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral promueve Tregs, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos derivados de tejido de los linfocitos T reguladores en el bazo. La Figura 9 muestra la expresión superficial promedio de los marcadores (CD3+LAP+) en linfocitos esplénicos medida usando citometría de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones Ob/Ob. Los valores son la media \pm DE. Las Figuras 9A y B demuestran que la administración oral de T-IgG
10 aumenta un subconjunto de linfocitos T reguladores CD3+LAP+ en el bazo.

Ejemplo 14. La administración oral de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD8+CD25+ en el bazo

15 Para determinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral promueve Tregs, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos derivados de tejido de los linfocitos T reguladores en el bazo. El aislamiento de linfocitos esplénicos, procedimientos y análisis de citometría de flujo y anticuerpos de tinción, son los mismos que se describieron anteriormente. Las Figuras 10 y 11 muestran la expresión superficial promedio de los marcadores (CD8+CD25+) en linfocitos esplénicos medida usando citometría
20 de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones Ob/Ob. Los valores son la media \pm DE.

Las Figuras 10 y 11 demuestran que la administración oral de T-IgG aumenta un subconjunto de linfocitos T reguladores CD8+CD25+ en el bazo.

25 Ejemplo 15. La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en el tejido adiposo

Para determinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral promueve Tregs en el tejido adiposo, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos
30 derivados de tejido de los linfocitos T reguladores. El análisis FACS se realizó en linfocitos aislados de tejido adiposo. Se aisló tejido adiposo de ratones Ob/Ob inmediatamente después del sacrificio. Los tejidos (almohadillas de grasa visceral) se picaron en trozos finos. Se colocaron muestras picadas en tampón de bicarbonato de Krebs-Ringer (3 ml/g de tejido adiposo) que contenía glucosa 10 mM y albúmina sérica bovina al 2,5 %, incubadas con 840 U/g de colagenasa tipo I (Sigma, Rehovot, Israel) a 37 °C durante 1 hora. Las células se filtraron dos veces a través
35 de malla de gasa (100 μ m) y se centrifugaron 50 g durante 5 minutos. Los adipocitos flotantes se separaron de las células del estroma vascular (S/V) asociadas al tejido adiposo sedimentadas. fracción: la fracción de infranadante se retiró y se centrifugó a 200 g durante 5 minutos para sedimentar las células S/V. Las Figuras 12A y 12B muestran la expresión superficial promedio de los marcadores (CD4+CD25+) en linfocitos de tejido adiposo medida usando citometría de flujo en el día 25 (día de sacrificio) en todos los ratones Ob/Ob.

40 La Figura 12 demuestra que la administración oral de T-IgG aumenta un subconjunto de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en el tejido adiposo.

45 Ejemplo 16. La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD3+LAP+ en el tejido adiposo.

Para determinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral promueve Tregs en el tejido adiposo, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos
50 derivados de tejido de los linfocitos T reguladores. El análisis de FACS se realizó en linfocitos aislados de tejido adiposo aislado de acuerdo con el método analizado anteriormente. Las Figuras 13A y 13B muestran la expresión superficial promedio de los marcadores (CD3+LAP+) en linfocitos de tejido adiposo medida usando citometría de flujo en el día 25 (día de sacrificio) en todos los ratones Ob/Ob.

La Figura 13 demuestra que la administración oral de T-IgG aumenta un subconjunto de linfocitos T reguladores
55 CD3+LAP+ en el tejido adiposo.

Ejemplo 17: La preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral aumenta la expresión de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en células vasculares estromales (que contienen preadipocitos).

Para determinar si la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral promueve Tregs en el tejido adiposo, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos derivados de tejido de los linfocitos T reguladores. El análisis de FACS se realizó en linfocitos aislados de células vasculares estromales que contenían preadipocitos aislados de acuerdo con el método analizado anteriormente.

Las Figuras 14A y 14B muestran la expresión superficial promedio de los marcadores (CD4+CD25+) en linfocitos de tejido adiposo medica usando citometría de flujo en el día 25 (día de sacrificio) en todos los ratones Ob/Ob.

10 La Figura 14 demuestra que la administración oral de T-IgG aumenta un subconjunto de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en las células vasculares estromales que contienen preadipocitos.

Para investigar más esta población de células, se realizó un análisis FACS en linfocitos aislados de células vasculares estromales para examinar la expresión de los marcadores (CD4+CD25+ LAP+) (el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones ob/ob).

Las Figuras 15A y 15B muestran la expresión superficial promedio de los marcadores (CD4+CD25+LAP+) en linfocitos de tejido adiposo medica usando citometría de flujo en el día 25 (día de sacrificio) en todos los ratones Ob/Ob.

20 La Figura 15 demuestra que la administración oral de T-IgG aumenta un subconjunto de linfocitos T reguladores CD4+CD25+ en las células vasculares estromales que contienen preadipocitos.

Ejemplo 18: Estudios de dosificación de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS en ratones Ob/Ob

Tabla 3: Diseño experimental

Grupo	PBS	T-IgG	T-IgG	T-IgG	T-IgG	HIBC
A	30 µl	-	-	-	-	-
N = 5						
B	-	1 ug	-	-	-	-
N = 5						
C	-	-	100 ug	-	-	-
N = 5						
D	-	-	-	1 mg	-	-
N = 5						
E	-	-	-	-	3 mg	
N = 5						
F	-	-	-	-	-	100 ug
N = 5						

Grupos experimentales. Se estudiaron seis grupos de ratones (Tabla 3). Los ratones Ob/Ob (5 por grupo) se alimentaron (PO) a diario durante 25 días (5 días a la semana) con 30 ul de PBS (control, grupo A) o 30 ul (= 1 ug) de calostro T-IgG (grupo B), o 30 ul (= 100 ug) de calostro T-IgG (grupo C) o 30 ul (= 1 mg) de calostro T-IgG (grupo D) o 30 ul (= 3 mg) de calostro T-IgG (grupo E) o 30 ul (= 100 ug) de calostro HIBC (grupo F). Ambas preparaciones de calostro se disolvieron en agua.

35 Después de 4 semanas, los ratones se sacrificaron. El día del sacrificio, se recogió la sangre cardíaca mediante

técnicas estándar y luego se obtuvo suero para fines futuros.

Animales. Para el modelo Ob/Ob, se usaron ratones Ob/Ob C57BL/6 macho jóvenes (de 6 a 7 semanas) que se adquirieron en Harlan Laboratories (Estados Unidos). Todos los ratones se mantuvieron en el Animal Core of the Hadassah-Hebrew University Medical School. A los ratones se les administró alimento para laboratorio estándar y agua a voluntad y se los mantuvo en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas. Los experimentos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con las directrices del Hebrew University-Hadassah Institutional Committee for Care and Use of Laboratory Animals y con la aprobación del comité.

10 Ejemplo 19: La administración oral de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye las enzimas hepáticas en ratones Ob/Ob.

Los niveles de actividades de AST y ALT se determinaron mediante un analizador de química clínica, como se ha descrito anteriormente. La Figura 16 demuestra que 1 mg de T-IgG fue la dosis más eficaz para disminuir las enzimas hepáticas.

Ejemplo 20: La administración oral de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye el colesterol total en ratones Ob/Ob.

20 Los triglicéridos plasmáticos y el colesterol total se determinaron mediante un analizador de química clínica, Reflovet Plus (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Alemania) como se ha descrito anteriormente. La Figura 17 demuestra que 100 ug de T-IgG fue la dosis más eficaz en la disminución del colesterol total.

25 Ejemplo 21: La administración oral de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS disminuye los TG hepáticos en ratones Ob/Ob.

La acumulación de triglicéridos intracelulares (TG) en el hígado se cuantificó utilizando una modificación del método de Folch. Los TG se extrajeron de alícuotas de hígados congelados y luego se ensayaron espectrofotométricamente usando el kit GPO-Trinder (Sigma, Rehovot, Israel) y se normalizaron con respecto al contenido de proteína en el homogeneizado.

La Figura 18 demuestra que 100 ug de 1 mg, 3 mg y 100 ug de T-IgG fueron las dosis más eficaces para disminuir los triglicéridos hepáticos. La disminución fue estadísticamente significativa para el grupo A frente a D, E, F (*p <0,05).

35 Ejemplo 22: La administración oral de 1 µg, 1 mg, 3 mg de T-IgG, junto con 100 ug de HIBC, disminuyó las células CD3+NK1.1+ en los hígados de ratones Ob/Ob.

El análisis de FACS se realizó en linfocitos aislados de hígados de ratones Ob/Ob. El promedio de expresión de los marcadores (CD3+NK1.1+) en linfocitos hepáticos se midió usando citometría de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones ob/ob. Para la citometría de flujo, se usaron los siguientes anticuerpos: anti-CD3-FITC y anti NK1.1-PE. La tinción superficial y el análisis FACS se realizaron como se ha descrito anteriormente.

La Figura 19A demuestra que la administración oral de 1 ug, 1 mg, 3 mg de T-IgG, junto con 100 ug de HIBC, disminuyó las células CD3+NK1.1+ en los hígados de ratones Ob/Ob. Además, la Figura 19 demuestra que la administración oral de 1 ug y 100 ug de T-IgG, disminuyó las células CD3+NK1.1+ en los hígados de ratones Ob/Ob.

50 Ejemplo 23: La administración oral de calostro T-IgG e HIBC, aumenta las células CD4+CD25+LAP-/LAP+ en los hígados de ratones Ob/Ob

Para determinar las dosificaciones de la preparación de inmunoglobulina derivada de calostro enriquecida con anti-LPS oral que promueve Tregs en los hígados, los inventores examinaron el efecto de la administración oral en los subconjuntos derivados de tejido de los linfocitos T reguladores. El análisis FACS se realizó en linfocitos aislados de hígados de acuerdo con el método analizado anteriormente. El análisis FACS se realizó en linfocitos aislados de hígados de ratones Ob/Ob. La Figura 20 muestra el promedio de expresión de marcadores sobre linfocitos hepáticos medido usando citometría de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones ob/ob.

La Figura 20A demuestra que la administración oral de calostro T-IgG e HIBC, aumenta las células CD4+CD25+LAP-/LAP+ en los hígados de ratones Ob/Ob. La Figura 20B demuestra que la administración oral de

100 ug de calostro HIBC, aumenta las células CD4+CD25+LAP+ en los hígados de ratones Ob/Ob.

Ejemplo 24: La administración oral de calostro T-IgG e HIBC, induce cambios en los linfocitos hepáticos CD25+LAP-

5

La Figura 21 demuestra que la administración oral de 1 ug, 1 mg, 3 mg de T-IgG, junto con 100 ug de HIBC, induce cambios en los linfocitos CD25+LAP- en los hígados de ratones Ob/Ob.

Ejemplo 25: La administración oral de calostro T-IgG e HIBC induce cambios en linfocitos esplénicos CD25+LAP+

10

La Figura 22A demuestra que la administración oral de los calostros T-IgG e HIBC, disminuye los linfocitos esplénicos CD25+LAP+. La Figura 22B demuestra que la administración oral de calostro T-IgG aumenta los linfocitos esplénicos CD25+LAP+.

15

Ejemplo 26: La administración oral de 1 y 3 mg de calostro T-IgG y 100 µg de HIBC, aumenta los linfocitos esplénicos CD4+CD25+LAP-

20

El análisis de FACS se realizó en linfocitos aislados de hígados de ratones Ob/Ob. La Figura 23 muestra el promedio de expresión de los marcadores (CD4+CD25+LAP-) sobre linfocitos esplénicos medido usando citometría de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones ob/ob. La Figura 23 demuestra que la administración oral de 1 y 3 mg de calostro T-IgG y 100 ug de calostro HIBC, aumenta los linfocitos esplénicos CD4+CD25+LAP-.

Ejemplo 27: La administración oral de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+ en el tejido adiposo.

25

El análisis FACS se realizó en linfocitos aislados de tejido adiposo de ratones Ob/Ob, como se ha descrito anteriormente. La Figura 24 muestra el promedio de la expresión de los marcadores (CD4+CD25+) en células de tejido adiposo que se midió usando citometría de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones ob/ob. La Figura 24 demuestra que la administración oral de calostro T-IgG aumenta los linfocitos CD4+CD25+ en el tejido adiposo.

30

Ejemplo 28: La administración oral de 100 µg de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+ en los adipocitos.

35

El análisis FACS se realizó en adipocitos aislados de tejido adiposo de ratones Ob/Ob, como se ha descrito anteriormente. La Figura 25A demuestra que el promedio de la expresión de los marcadores (CD4+CD25+) en los adipocitos se midió usando citometría de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones ob/ob.

La Figura 25A demuestra que la administración de 100 ug de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+ en los adipocitos. La Figura 25B demuestra que la administración oral de 100 ug de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+ en los adipocitos.

40

Ejemplo 29: La administración oral de calostro T-IgG aumenta CD3+LAP+ en los adipocitos

45

El análisis FACS se realizó en adipocitos aislados de tejido adiposo de ratones Ob/Ob, como se ha descrito anteriormente. La Figura 26 muestra que el promedio de la expresión de los marcadores (CD3+LAP+) en los adipocitos se midió usando citometría de flujo el día 25 (día del sacrificio) en todos los ratones ob/ob.

La Figura 26A demuestra que la administración oral de calostro T-IgG aumenta CD3+LAP+ en los adipocitos. La Figura 26B demuestra que la administración oral de calostro T-IgG aumenta CD3+LAP+ en los adipocitos.

50

Ejemplo 30: La administración oral de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+LAP- en los adipocitos

La Figura 27A demuestra que la administración de calostro T-IgG aumenta CD4+CD25+LAP en los adipocitos.

55

Ejemplo 31: La administración oral de calostro enriquecido con anti-LPS reduce la translocación bacteriana en un modelo de hepatitis

Para examinar la translocación bacteriana y la hepatitis, los grupos de ratones se trataron de la siguiente manera:

Grupo A: Tratado con BCP: calostro sin anticuerpo
 Grupo B: calostro que contiene anti-LPS

Los ratones se alimentaron con calostro durante 4 días antes de la inducción de hepatitis Con A.

5

Administración de Con A y medición de actividades de transaminasas en suero. Con A se adquirió en MP Biomedicals (Ohio, Estados Unidos). Con A (0,5 mg, 20 mg/kg) se disolvió en 200 µl de Tris 50 mM (pH 7), NaCl 150 mM, CaCl₂ 4 mM, y se inyectó por vía intravenosa en los ratones. Se obtuvieron sueros de ratones individuales 8 o 20 h después de la inyección de Con A. Las actividades séricas de alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) se midieron usando un analizador automático.

10

Para evaluar la translocación bacteriana, se midieron los niveles de lipopolisacárido (LPS) utilizando el ensayo cromogénico de lisado de amebocitos del Limulus (LAL); LAL es una medida del grado de translocación bacteriana.

15 La Tabla 4 demuestra que la administración oral de calostro anti LPS disminuyó la translocación bacteriana, como se muestra por una disminución en los niveles promedio de LAL.

Tabla 4

		promedio	desv. est.	valor de p
Grupo A	ConA + BCP	1,52	0,75	0,37
Grupo B	ConA + LPS			
	Calostro	1,18	0,30	

20 De manera importante, la translocación bacteriana reducida se asoció con una mejora en la enzima hepática ALT, que es un marcador de daño hepático, como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5

		ALT	promedio	DESV. EST.
Grupo A ConA + BCP	A1	28170		
	A2	857,6		
	A3	1356,8		
	A4	340,8		
	A5	26340		
			11413,04	14480,59
Grupo B ConA+T-IgG	B1	10992		
	B2	796,8		
	B3	187,2		
	B4	2816		
	B5	12672		
			5492,8	5898,076

25 **Ejemplo 32: Preparación de composiciones que contienen preparaciones enriquecidas con anti-LPS derivadas de calostro y anticuerpos anti-insulina**

Para la preparación de la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS, se recogió calostro de

aproximadamente 200 vaqueros comerciales. Las vacas de estos rebaños, además de ser vacunadas contra patógenos bovinos de rutina, han sido vacunadas con una vacuna patentada de Anadis contra los antígenos externos de la pared celular de múltiples cepas de la bacteria *E. coli*, un importante organismo en la microflora intestinal humana. Para la preparación de la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-insulina, se
5 inmunizan tres vacas lecheras con insulina conjugada con KLH como antígeno. Las vacunas antigénicas se administran durante las últimas ocho semanas de gestación. La leche del calostro se recoge durante los primeros dos días de lactancia. El calostro obtenido se congeló en bolsas individuales para los ensayos. Para el procesamiento, el calostro se descongeló, se agrupó y se eliminó la grasa. Cada lote se pasteurizó. El calostro se concentró por ultrafiltración para reducir el volumen antes de la liofilización. La etapa de ultrafiltración redujo la
10 lactosa en el polvo final a menos del 7 % (desde aproximadamente el 50 %).

La preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS y la preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-insulina se mezclan para formar una composición para su uso como se describe a continuación.

15 Para el modelo de hepatitis mediada inmunológicamente, ratones C57/bl macho de once a doce semanas se inyectan en la vena de la cola con una dosis de 500 µg/ratón (aproximadamente 15 mg/kg) de Con A (MP Biommedicals, Estados Unidos) que se disuelve en Tris 50 mM pH 7, NaCl 150 mM, CaCl₂ 4 mM, que se sabe que induce hepatitis. A los animales de todos los grupos ensayados se le administra por vía oral (por ejemplo, por sonda)
20 enriquecidas con anti-LPS y anti-insulina y se comparan con los controles no tratados. Se hace el seguimiento de todos los animales de todos los grupos ensayados para determinar los siguientes parámetros: niveles de aspartato aminotransferasa sérica (AST) y alanina aminotransferasa (ALT), examen histológico de muestras de hígado, análisis FACS de linfocitos intrahepáticos e intraesplénicos para marcadores NKT, medición de TG, colesterol total, tolerancia a la glucosa, insulina sérica, glucosa sérica, niveles de citocinas y análisis de transferencia Western para
25 determinar la expresión de los factores de transcripción STAT 1, 4 y 6 y NFκB, y se comparan con los grupos de control.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una preparación de inmunoglobulina enriquecida con anti-LPS derivada de calostro para su uso en el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH) en un sujeto.
5
2. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el sujeto tiene niveles elevados de aspartato aminotransferasa (AST) o alanina aminotransferasa (ALT).
3. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el tratamiento implica
10 descender los niveles de AST o ALT en el sujeto.
4. La composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el calostro es calostro bovino.
- 15 5. La composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición se formula para administración oral.

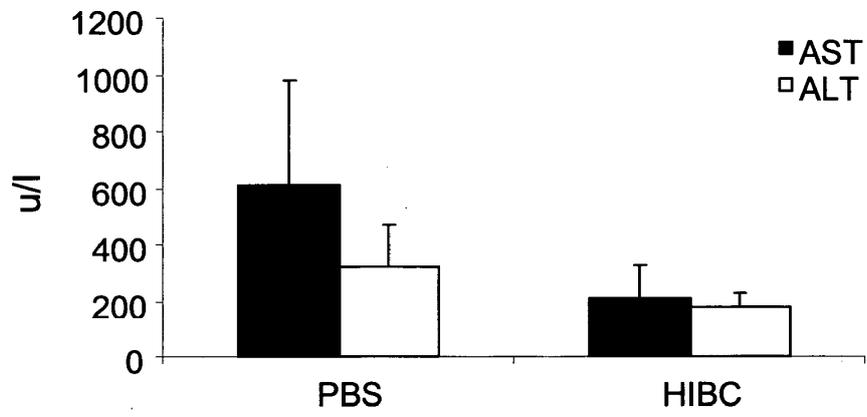


Fig. 1

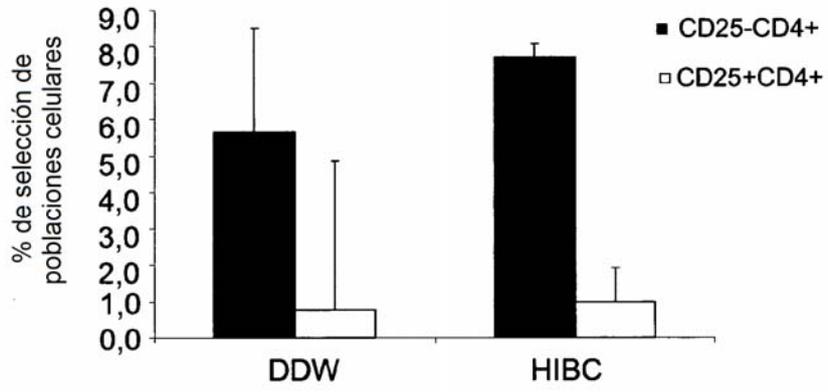


Fig. 2A

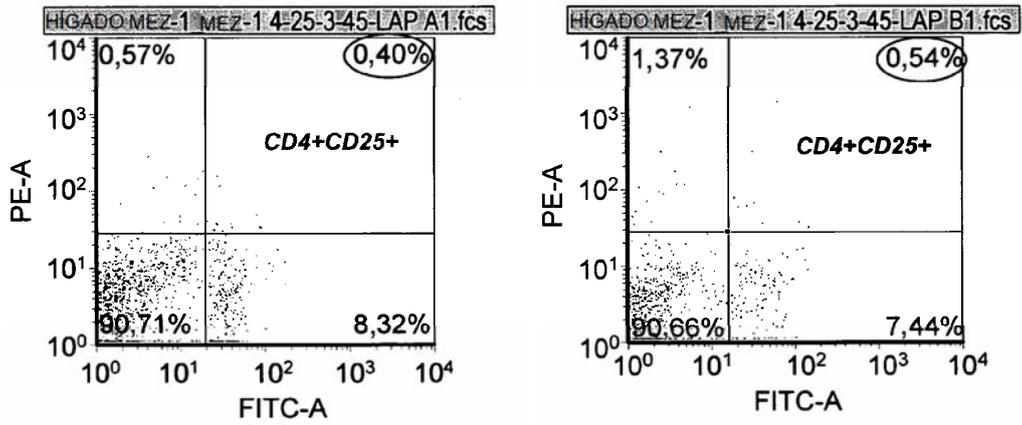


Fig. 2B

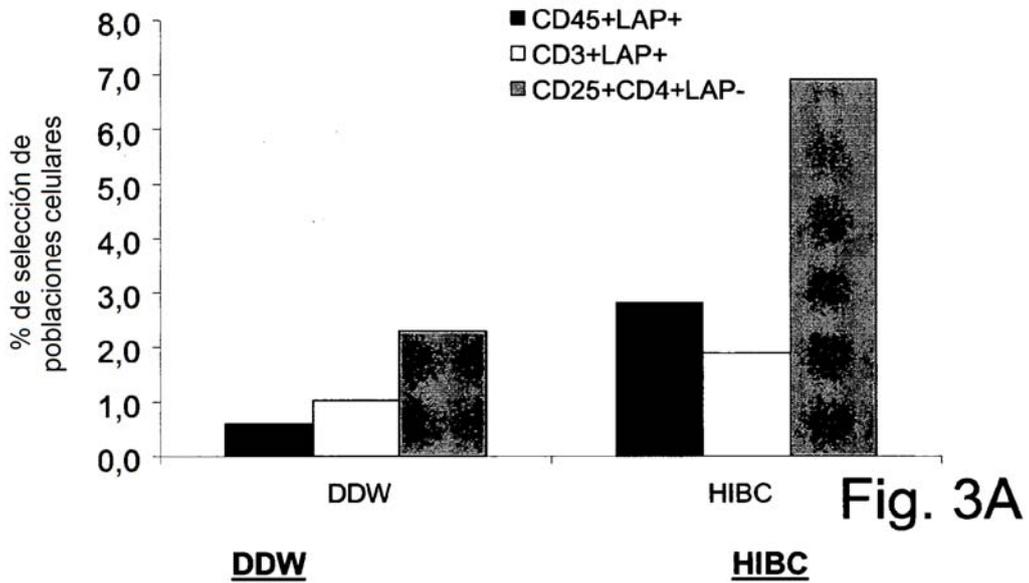


Fig. 3A

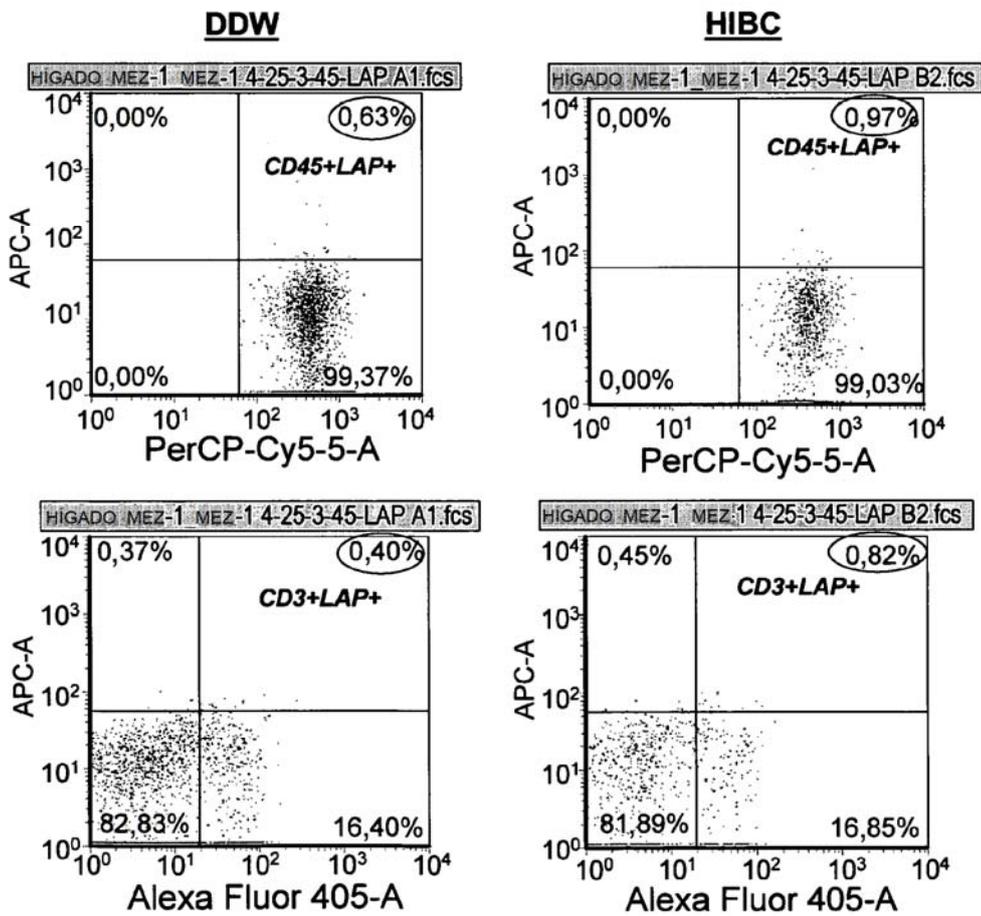


Fig. 3B

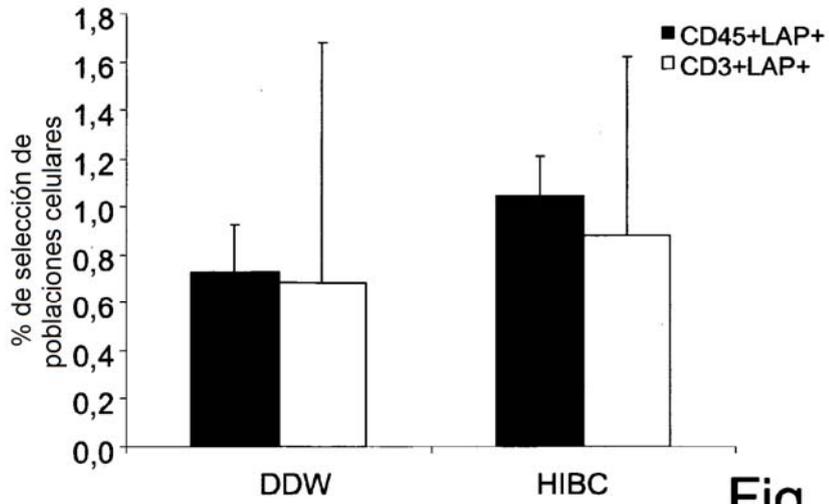


Fig. 4A

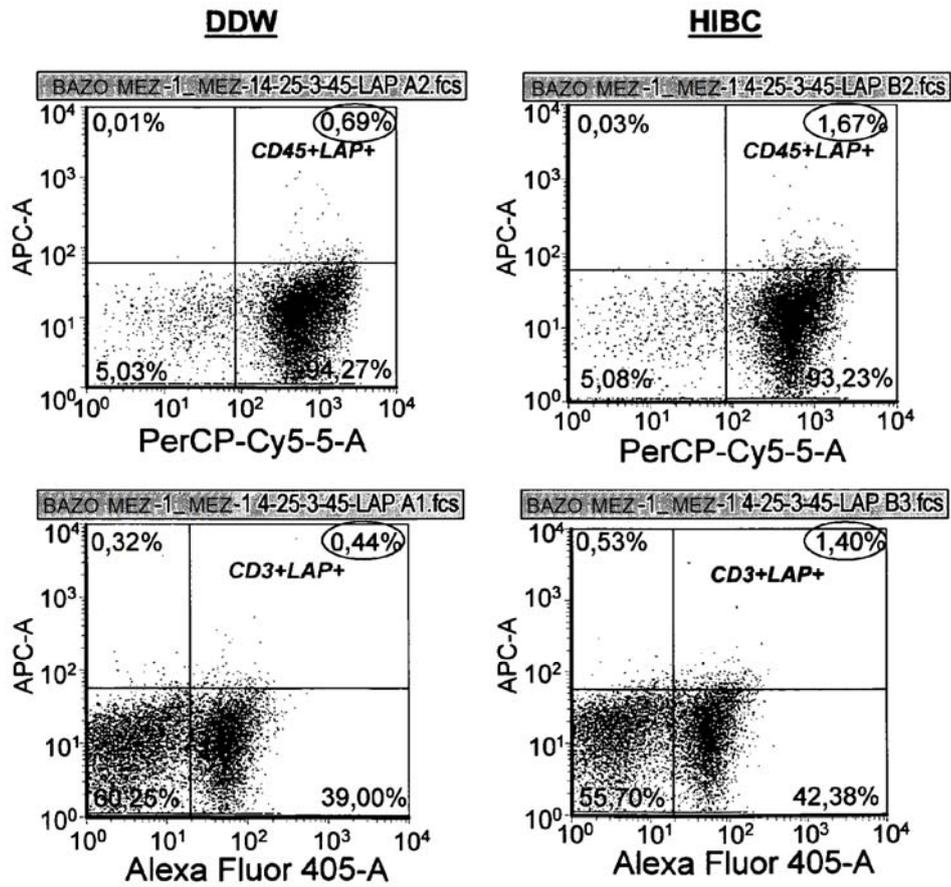


Fig. 4B

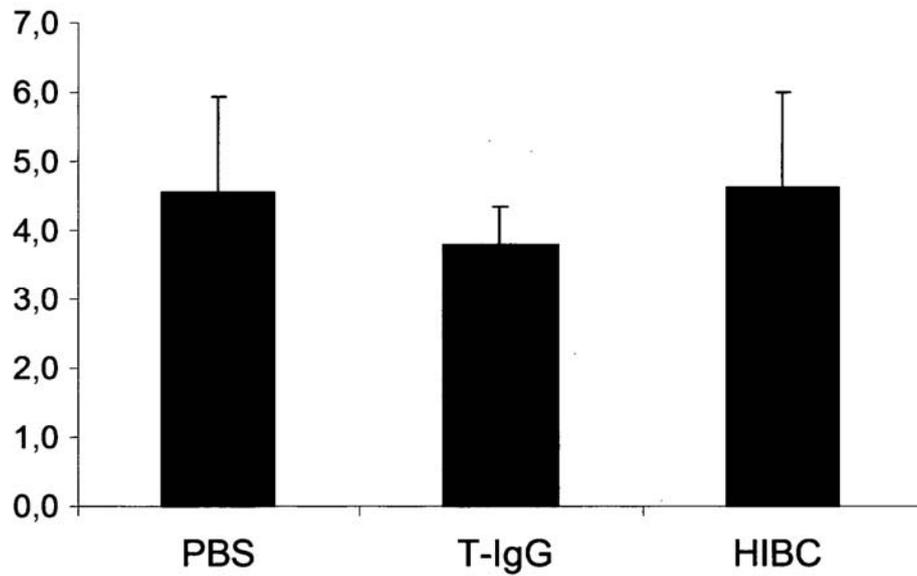


Fig. 5

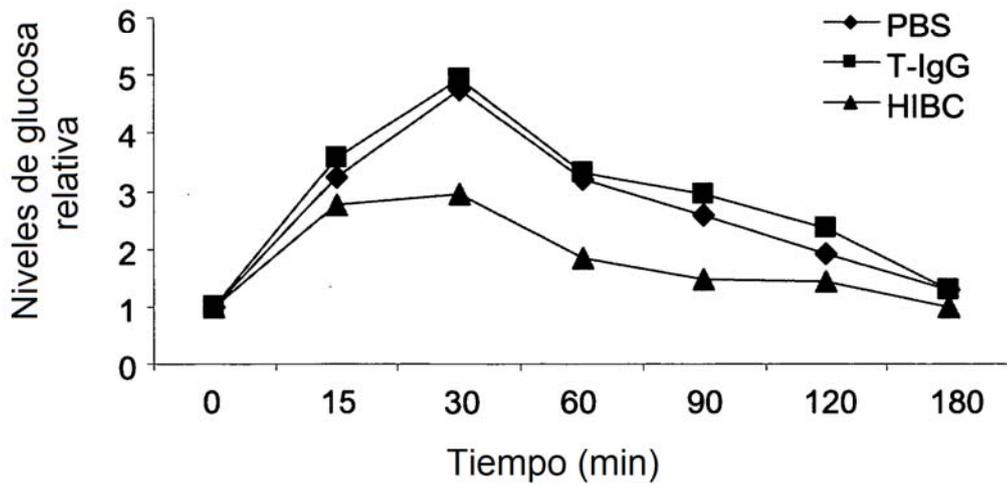


Fig. 6

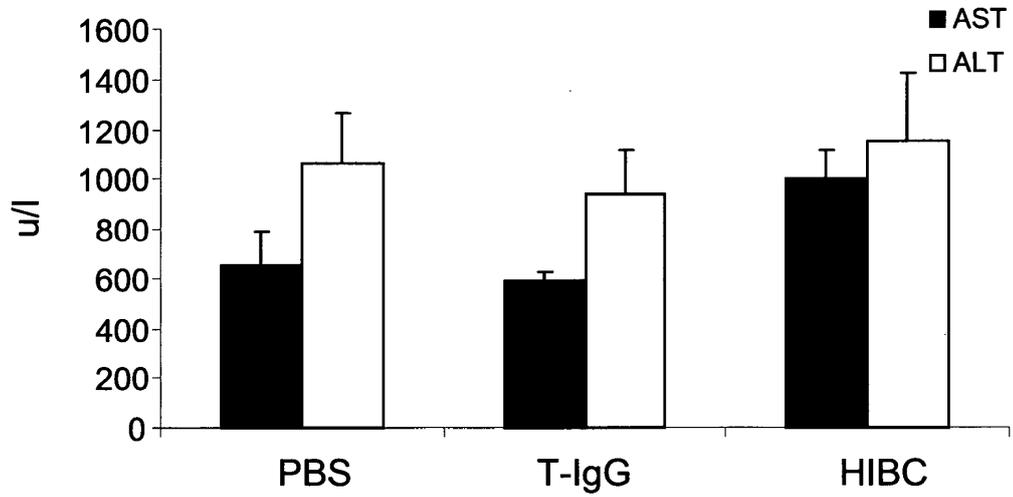


Fig. 7

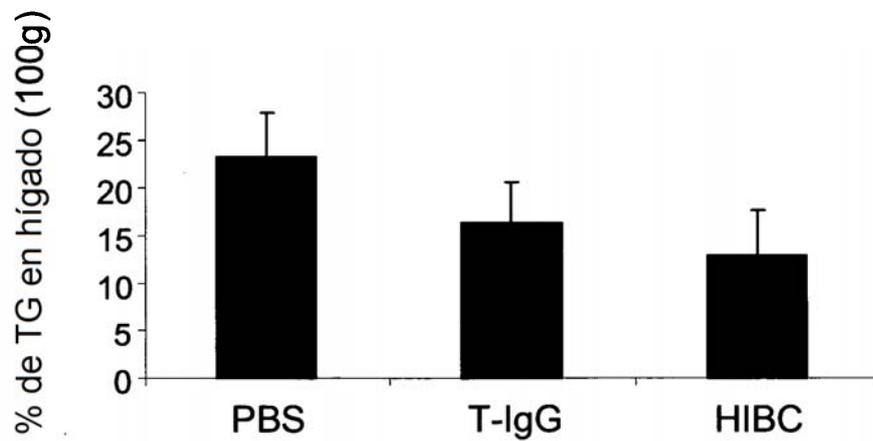


Fig. 8

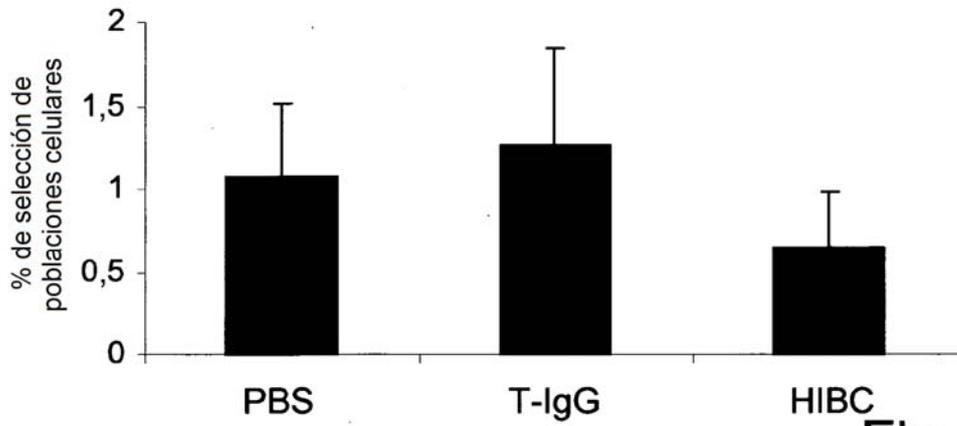


Fig. 9A

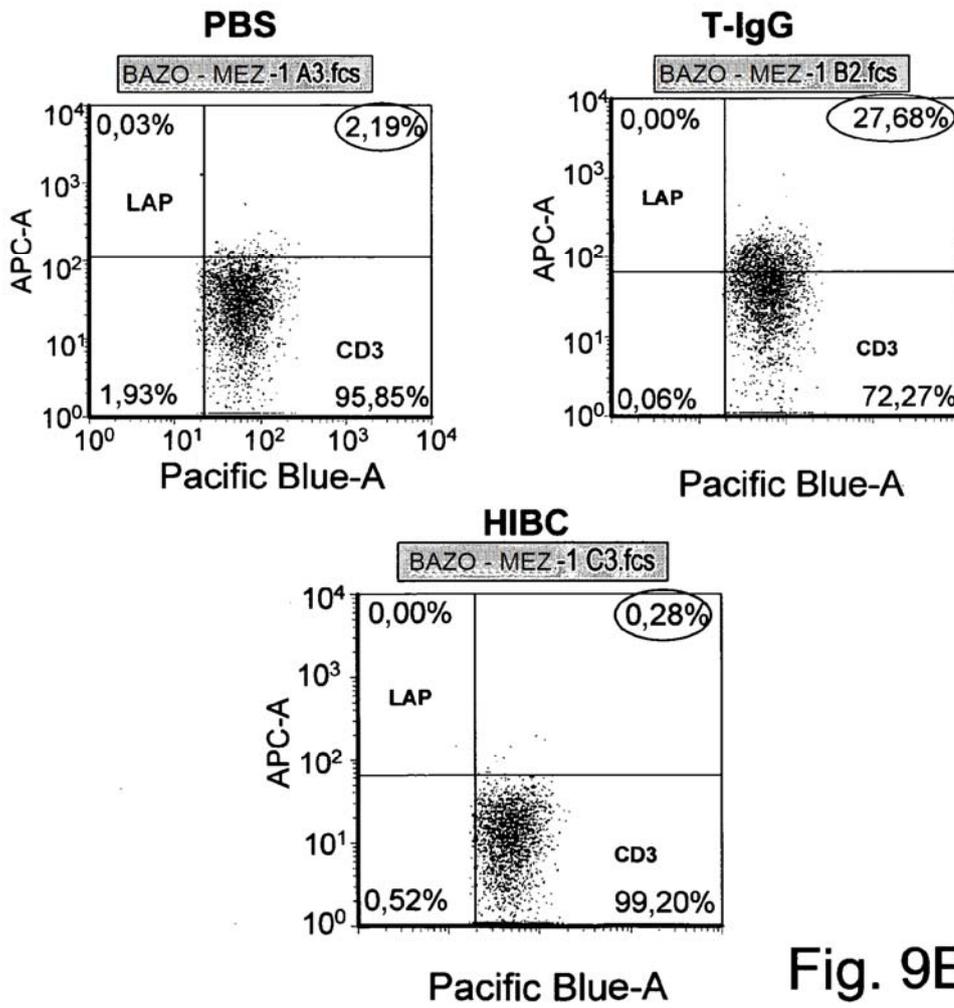


Fig. 9B

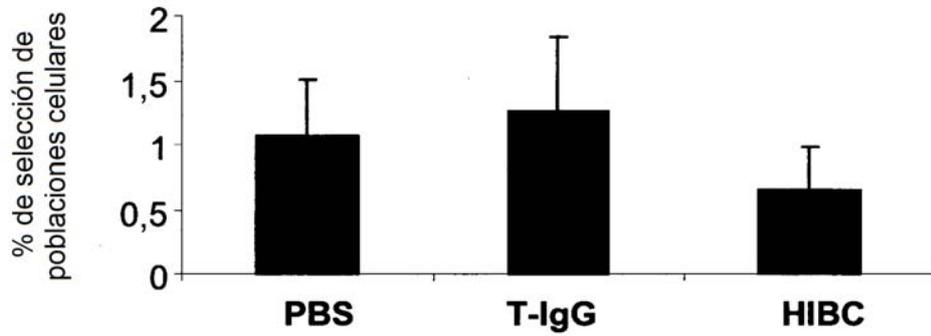


Fig. 10

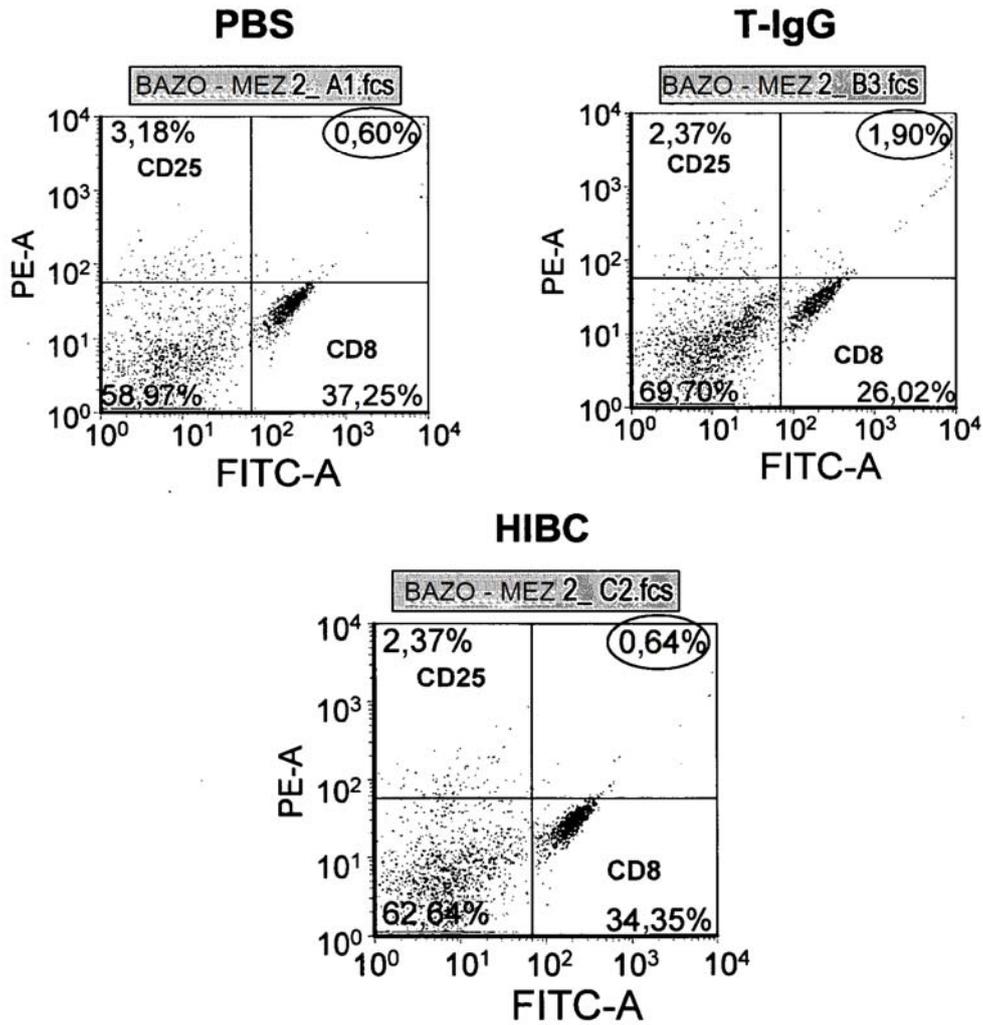


Fig. 11

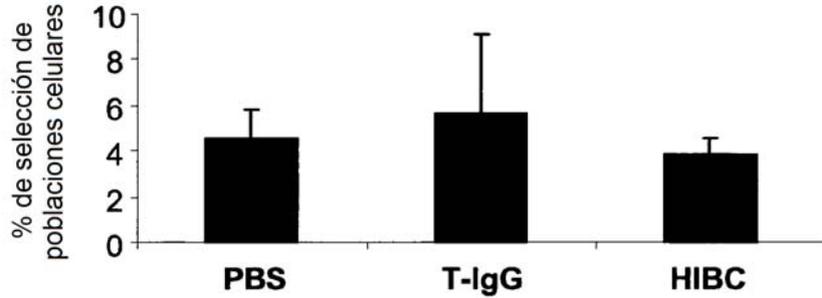


Fig. 12A

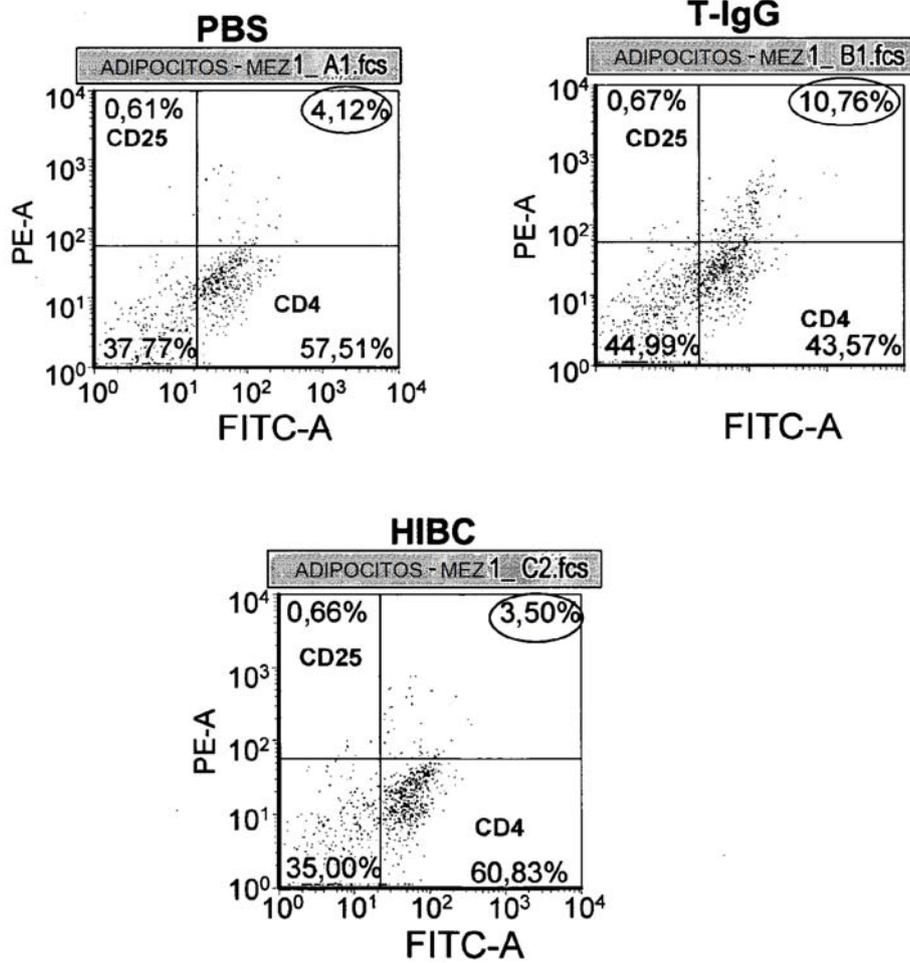


Fig. 12B

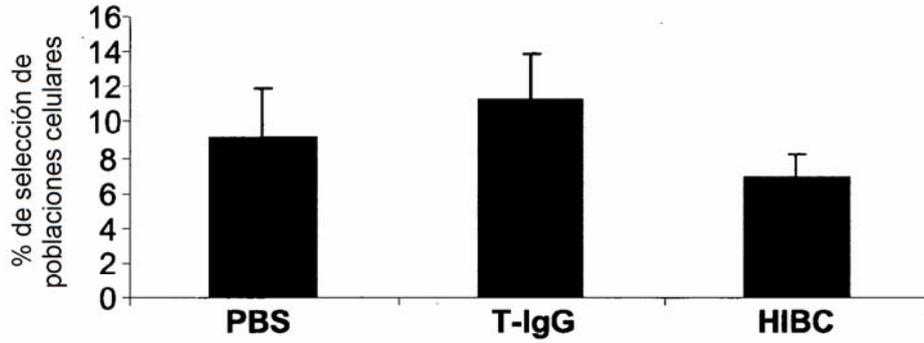


Fig. 13A

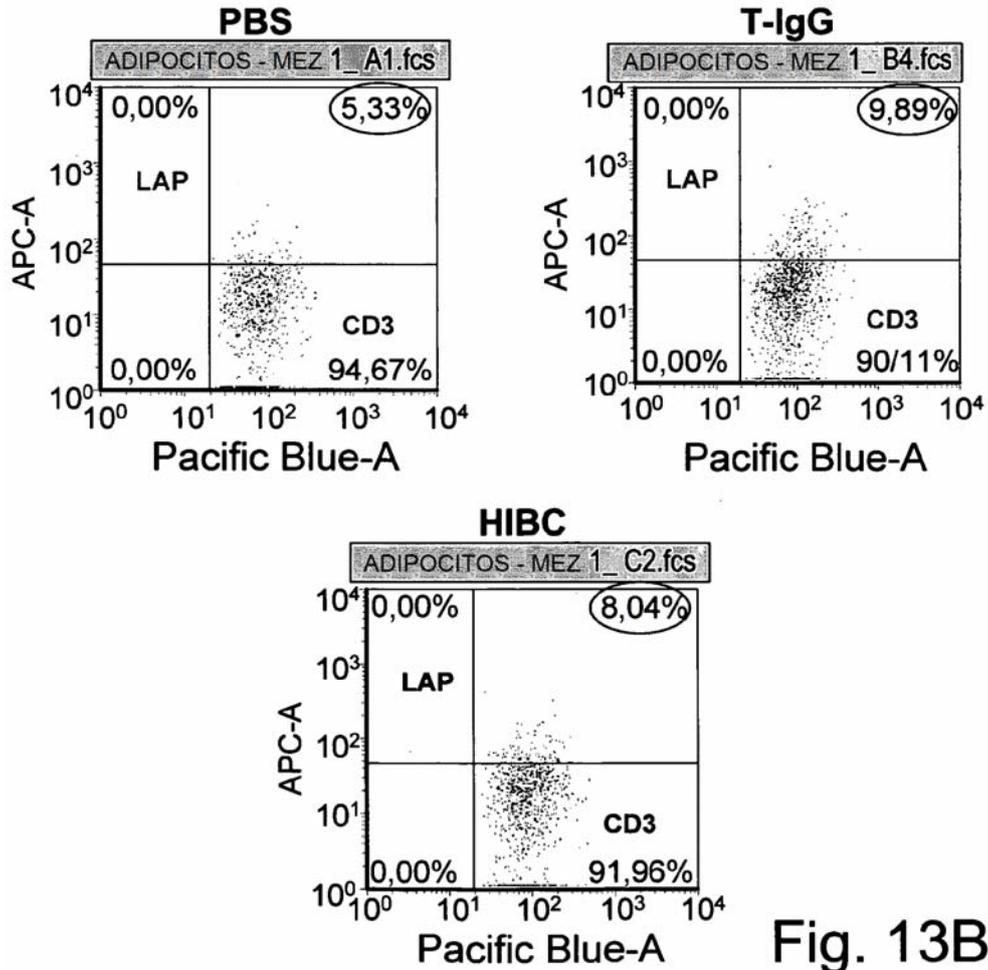


Fig. 13B

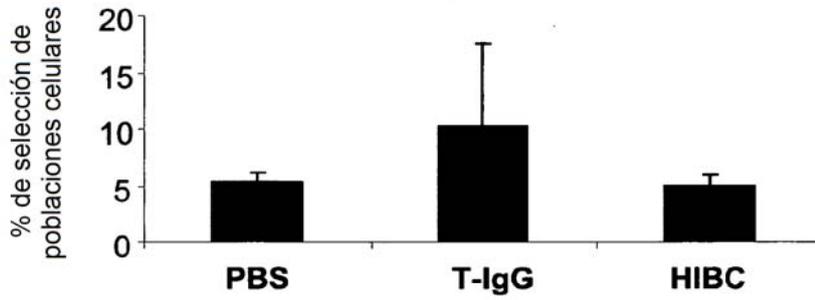


Fig. 14A

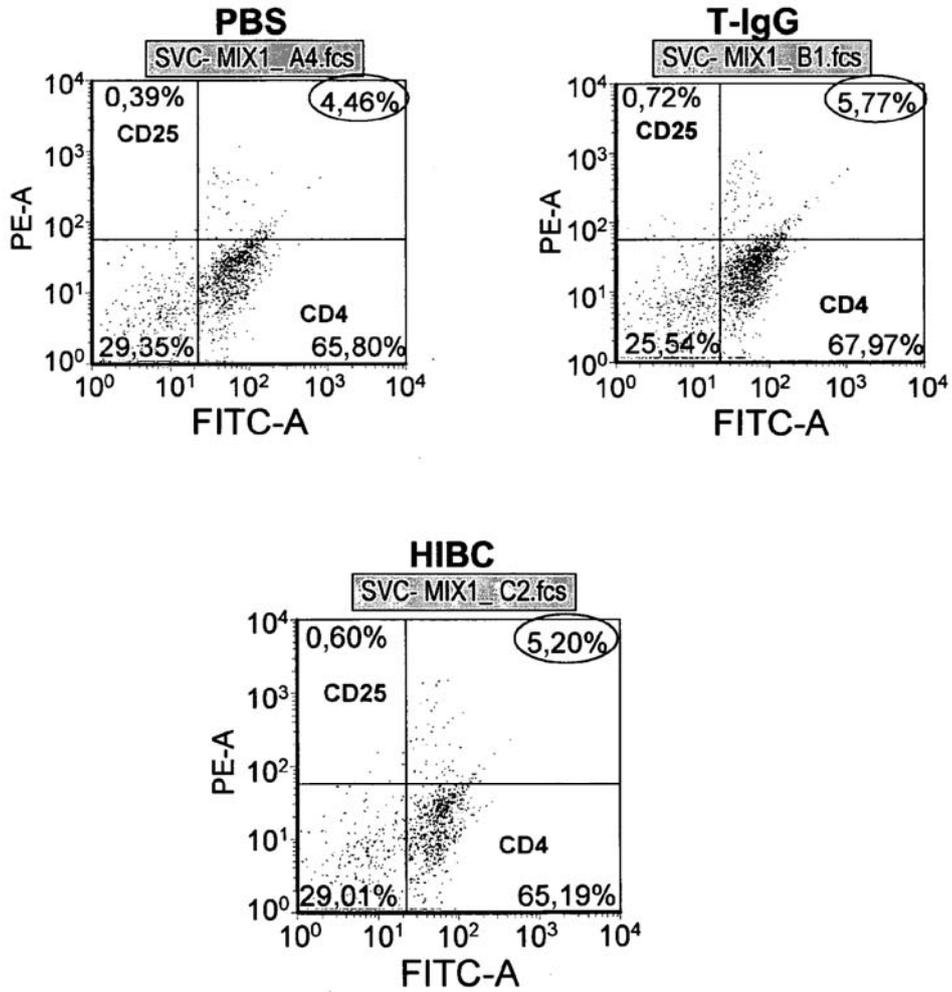


Fig. 14B

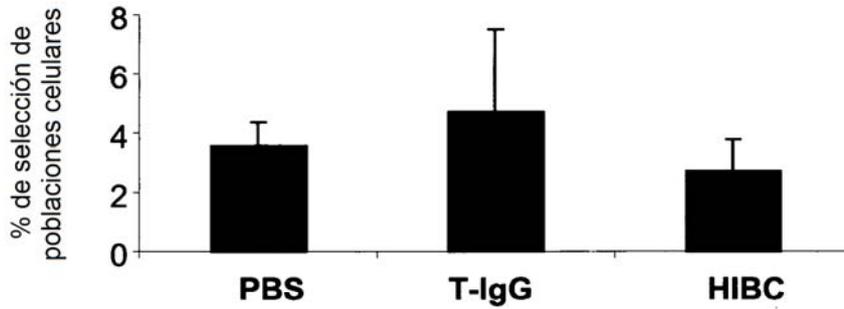


Fig. 15A

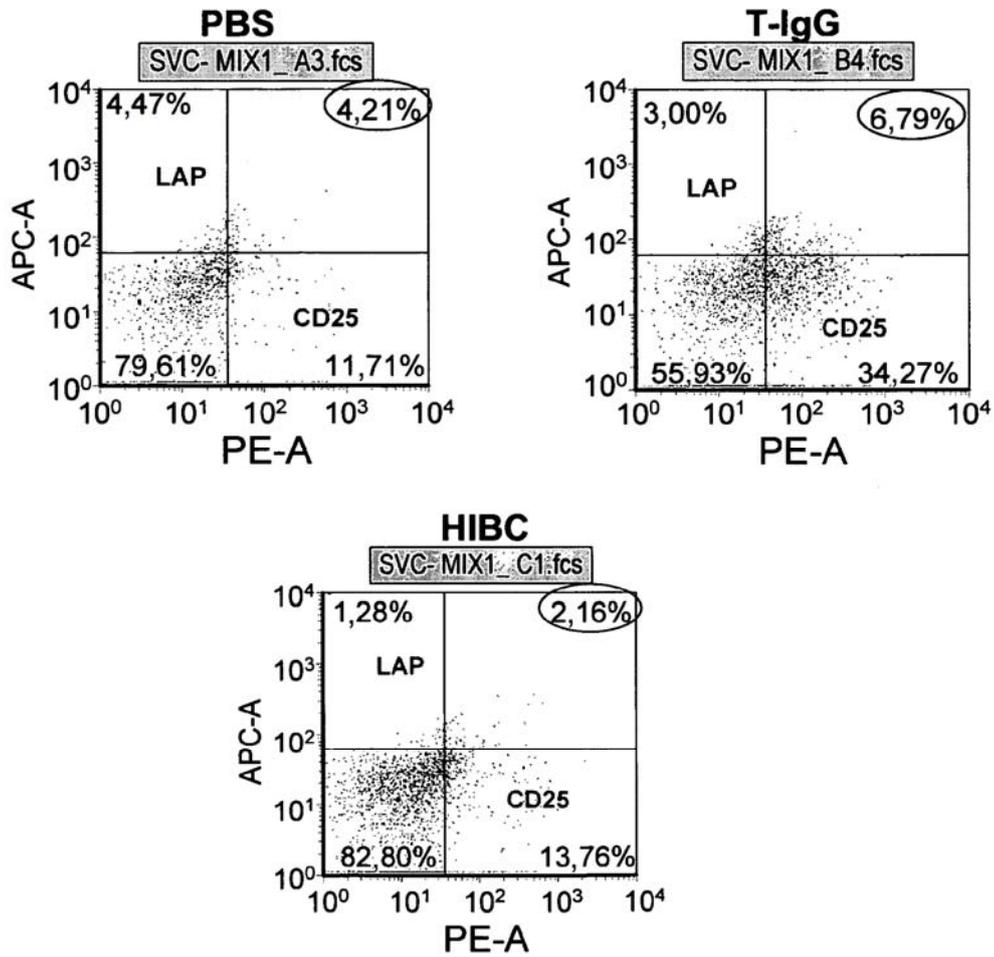


Fig. 15B

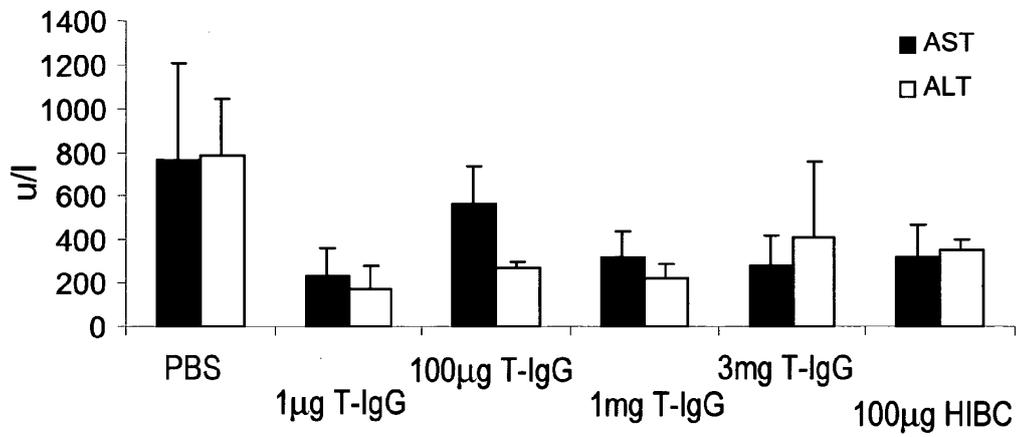


Fig. 16

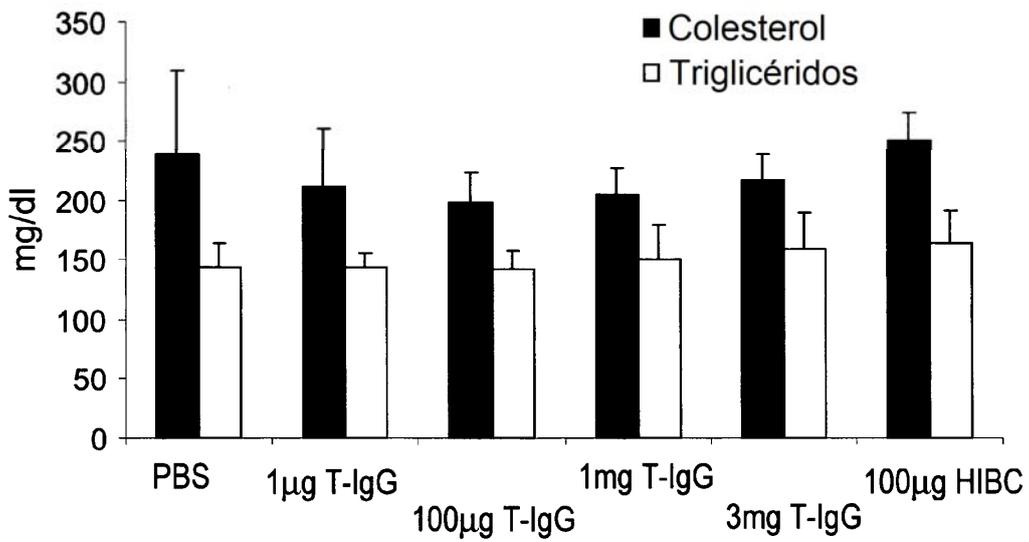


Fig. 17

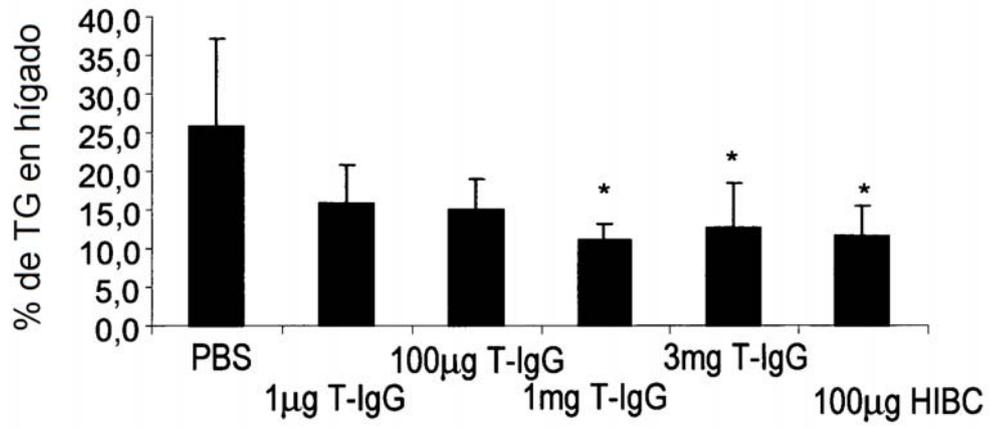


Fig. 18

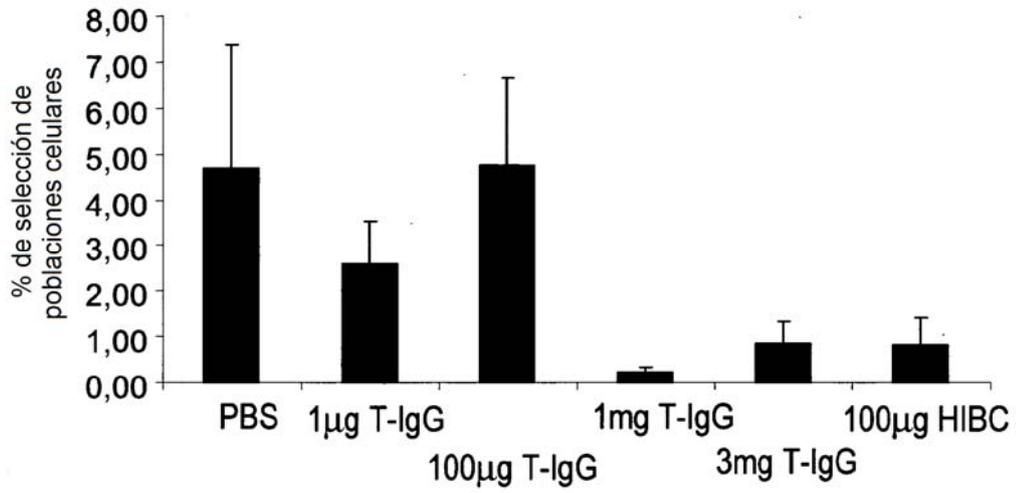


Fig. 19A

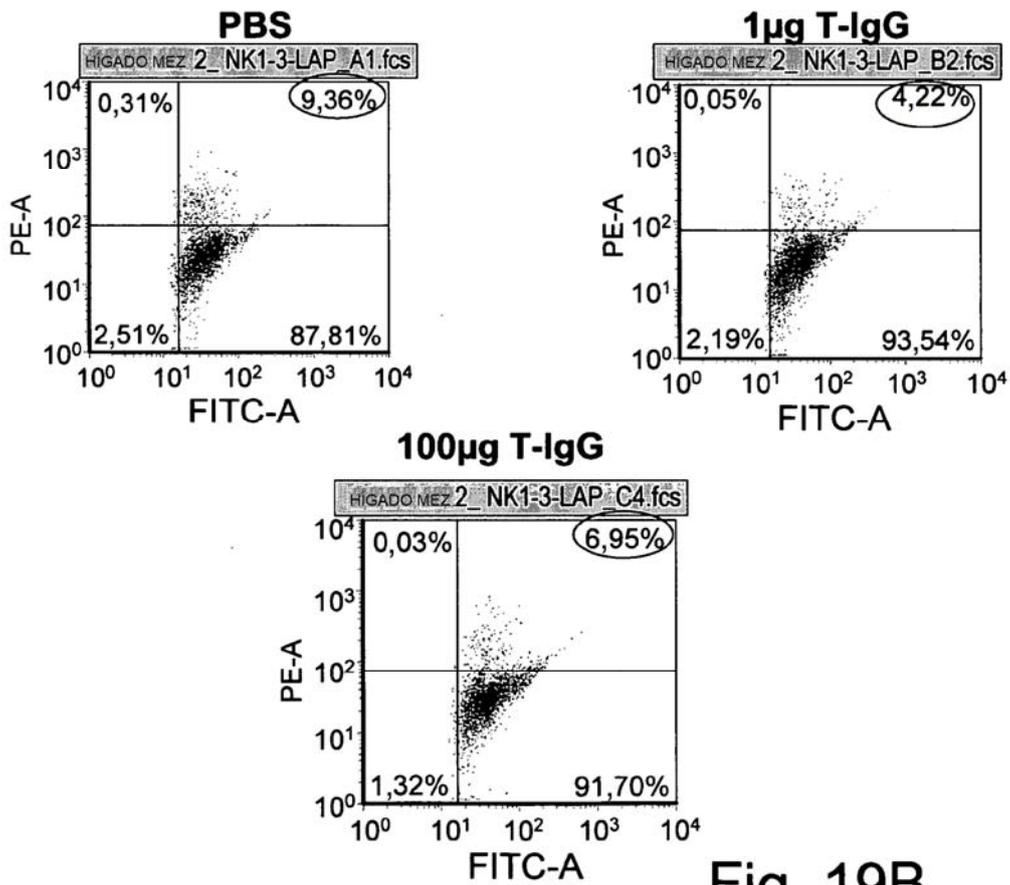


Fig. 19B

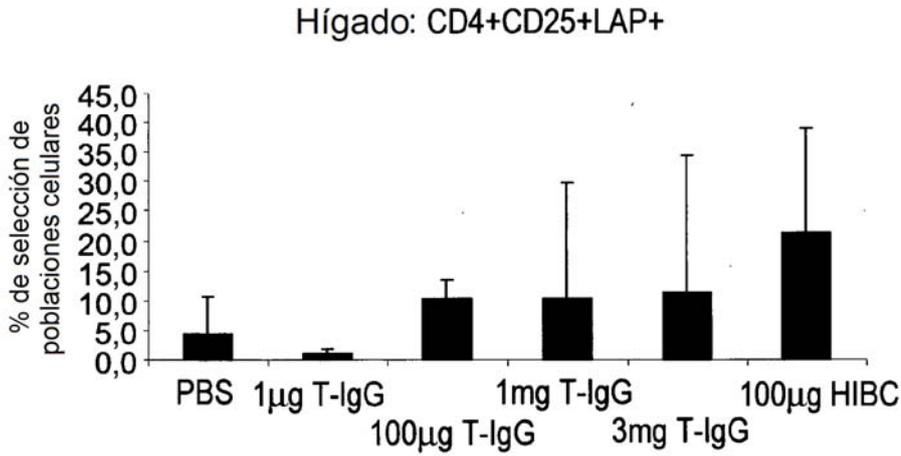
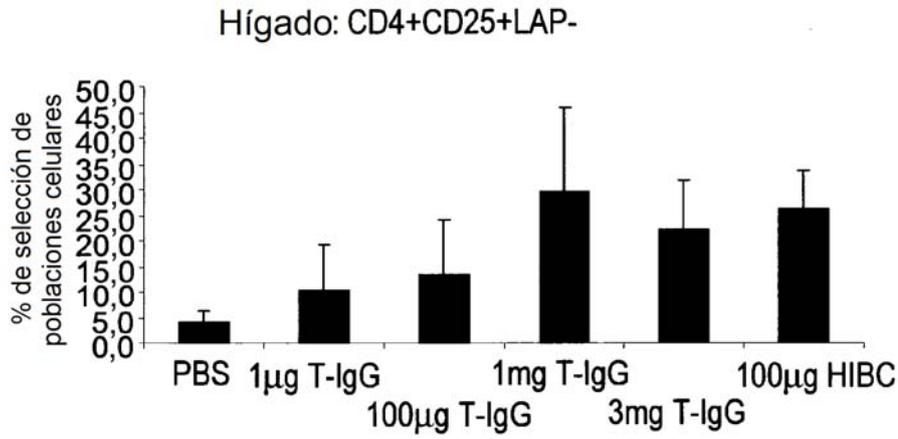


Fig. 20A

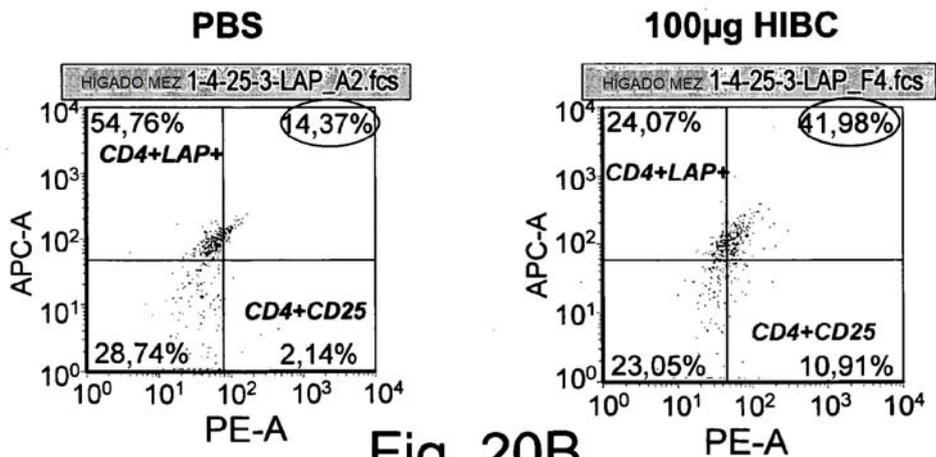


Fig. 20B

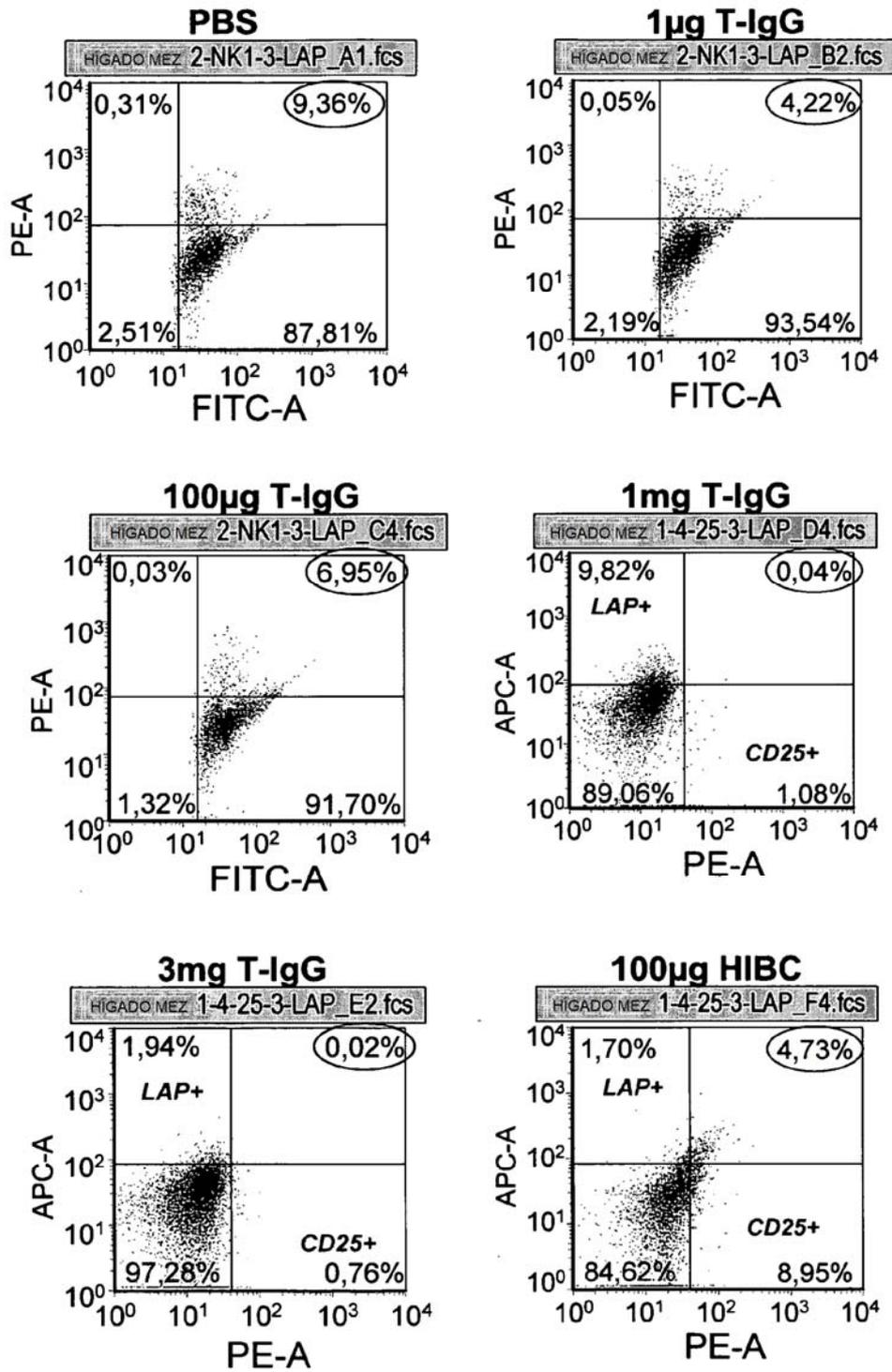


Fig. 21

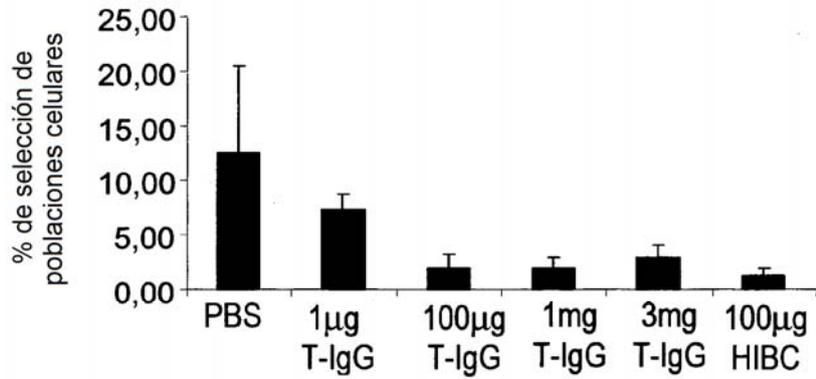


Fig. 22A

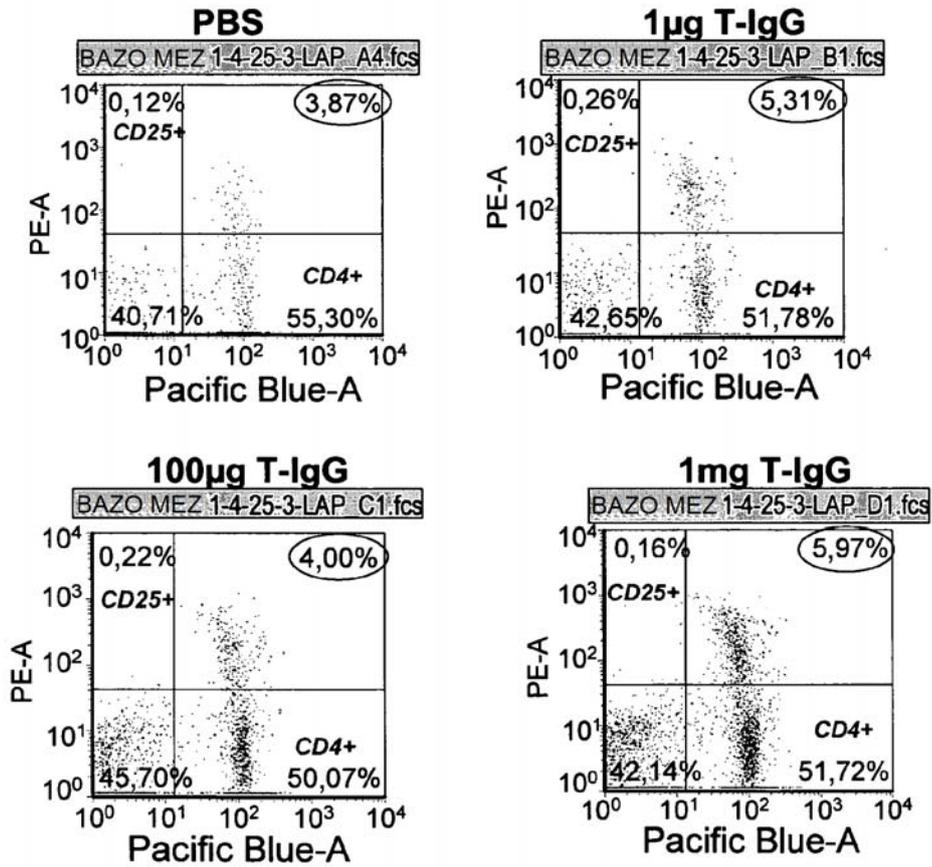


Fig. 22B

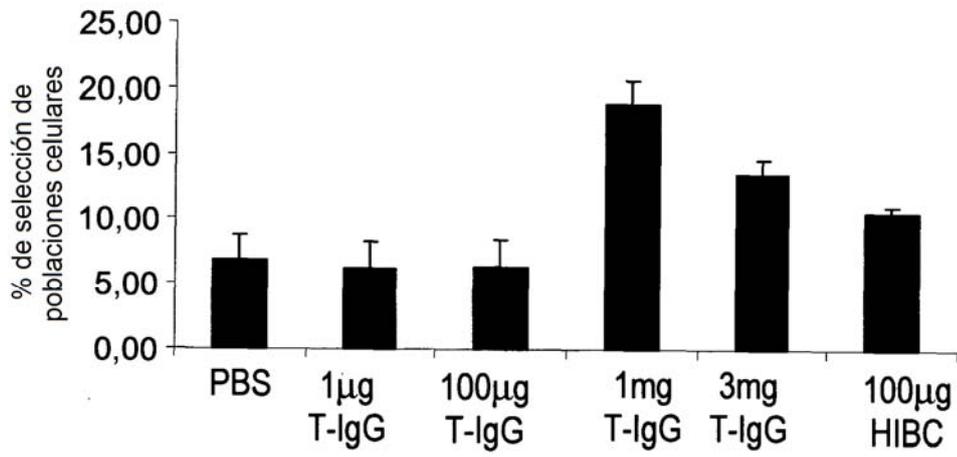


Fig. 23

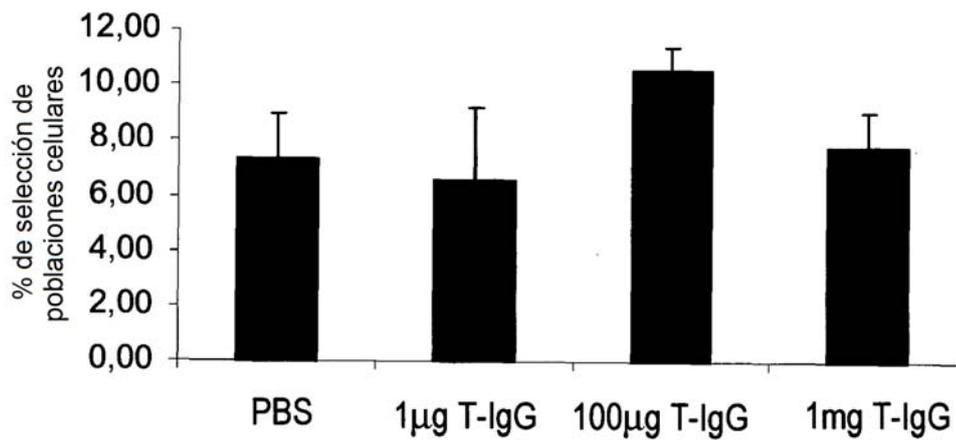


Fig. 24

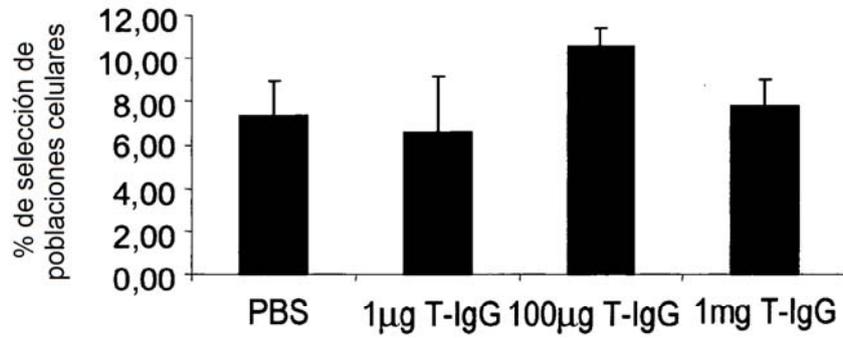


Fig. 25A

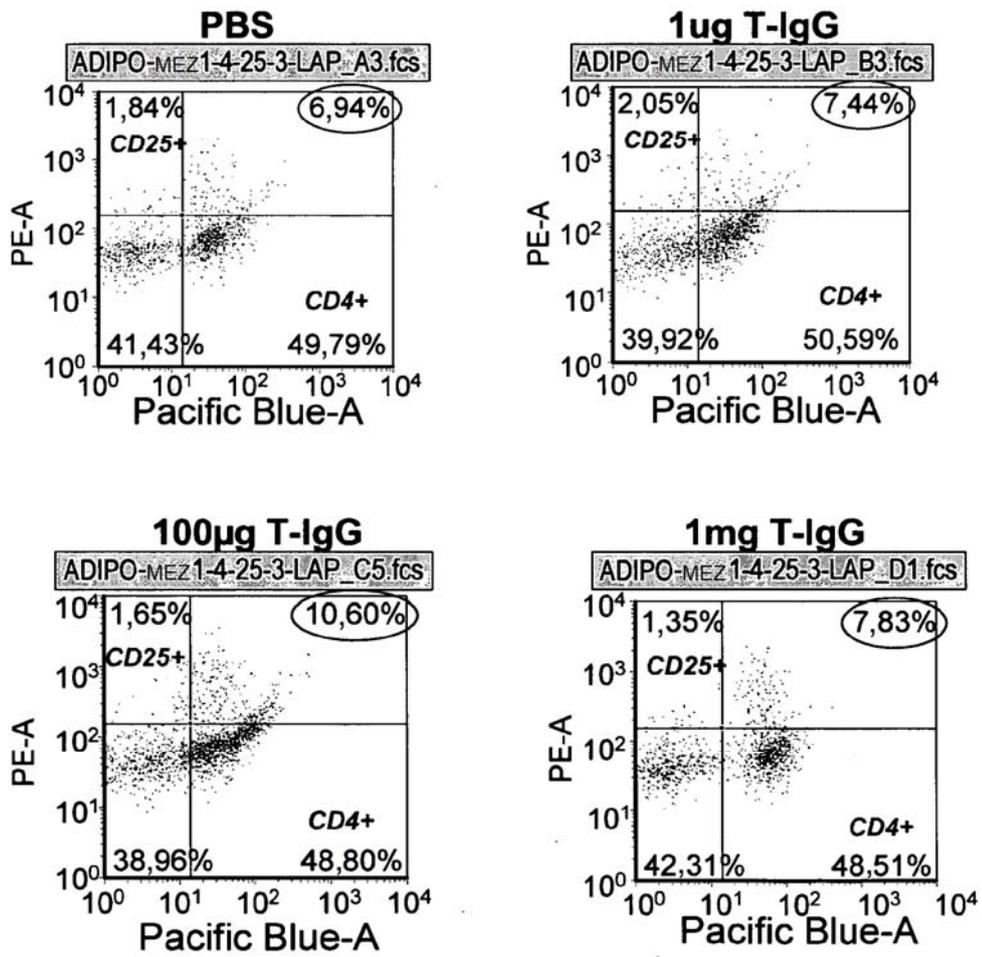


Fig. 25B

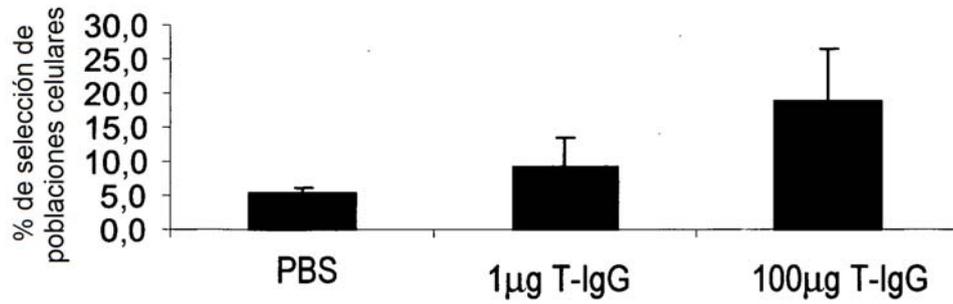


Fig. 26A

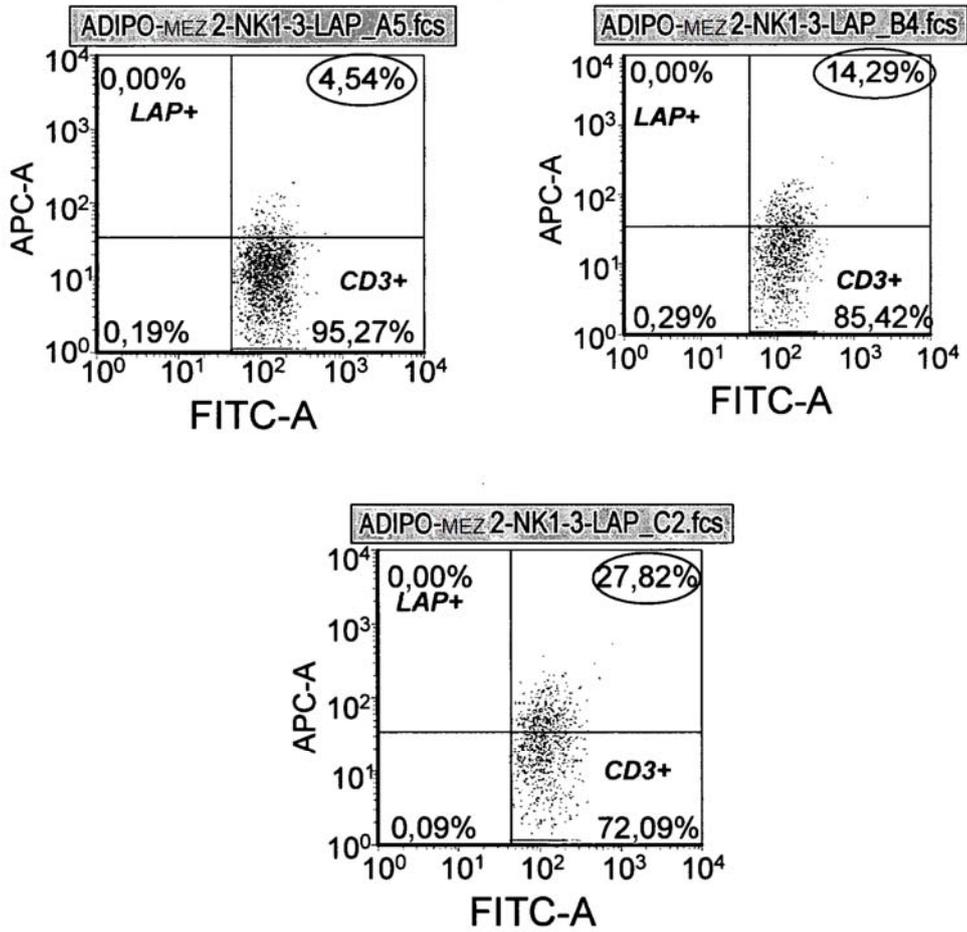


Fig. 26B

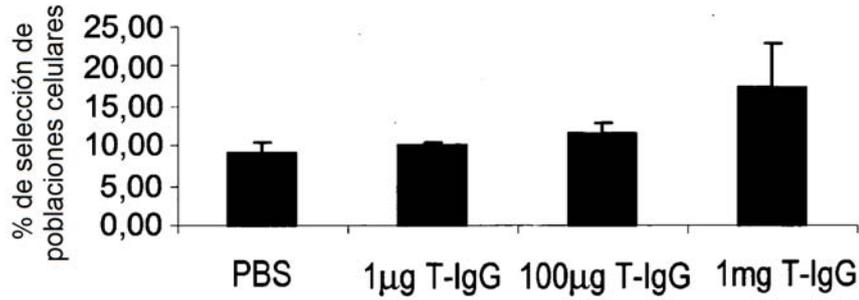


Fig. 27A

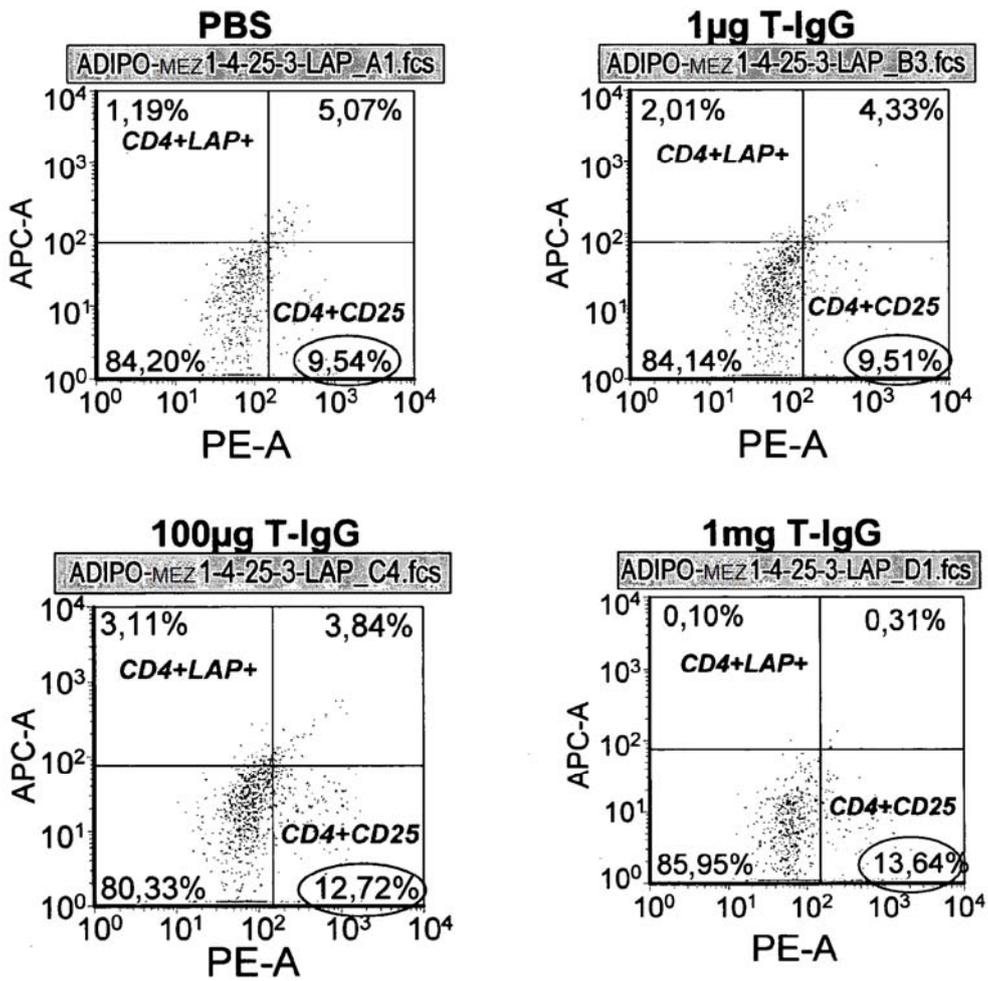


Fig. 27B